

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI "FEDERICO II"



FACOLTA' DI AGRARIA
Dipartimento di Ingegneria Agraria e
Agronomia del Territorio

Dottorato in
VALORIZZAZIONE E GESTIONE DELLE RISORSE
AGROFORESTALI
XXIV ciclo

Monitoraggio dei flussi di gas ad effetto serra
(N₂O, CH₄) in suoli agricoli in ambiente
mediterraneo

LUCIA OTTAIANO

Tutor:

Prof. Mauro Mori

Co-Tutor:

Prof. Fabrizio Quaglietta Chiarandà

Coordinatore:

Prof. Guido D'Urso

INDICE

1. Introduzione	1
1.1. L'azoto in atmosfera e in agricoltura	3
1.2. L'inquinamento ambientale da azoto proveniente dal suolo agrario	5
1.3. I processi di trasformazione dell'azoto	6
1.3.1. La nitrificazione	6
1.3.2. La denitrificazione	8
1.4. I fattori di controllo delle emissioni di N ₂ O	9
1.4.1. L'areazione del suolo	10
1.4.2. L'umidità del suolo	10
1.4.3. L'azoto disponibile nel suolo	12
1.4.4. Il pH del suolo	13
1.4.5. La temperatura del suolo	13
1.4.6. Il contenuto di sostanza organica	13
1.4.7. La tessitura del suolo	14
1.5. Le pratiche agricole come fonte di N ₂ O	15
1.5.1. L'irrigazione	15
1.5.2. Le lavorazioni del terreno	16
1.5.3. La concimazione	17
1.6. Il metano	21
1.6.1. Il carbonio nel suolo	24
2. Scopo del lavoro	26
3. Materiali e metodi	27
3.1. I Prova	27
3.1.1. Area di studio	27
3.1.2. Il calcolo del bilancio idrico	31
3.1.3. Le attività di monitoraggio	31
3.1.4. Analisi dei campioni di area	33
3.1.5. La determinazione dei parametri chimico-fisici del suolo	34
3.1.5.1. L'umidità del suolo	34
3.1.5.2. Temperatura del suolo	35

3.1.5.3.	Determinazione del contenuto nitrati ed ammonio nel suolo	35
3.2.	II prova	36
3.2.1.	Area di studio	36
3.2.2.	Le attività di monitoraggio	38
3.2.3.	Analisi dei campioni di area	38
3.2.4.	La determinazione dei parametri chimico-fisici del suolo	38
3.3.	Calcolo dei flussi	39
3.3.1.	Il calcolo dei flussi di N_2O e di CH_4	39
3.3.2.	Il calcolo dei flussi cumulati	39
3.3.3.	Il calcolo del fattore di emissione	40
3.3.4.	Il Global-warming potential (GWP)	40
3.4.	La statistica	42
4.	Risultati e discussioni	43
4.1.	I Prova	43
4.1.1.	Il bilancio idrico del 2009 e 2010	43
4.1.2.	Flussi di protossido di azoto nel 2009 e 2010	44
4.1.3.	Flussi cumulati di N_2O nel 2009 e nel 2010	53
4.1.4.	Flussi di metano nei due anni di prova	55
4.1.5.	Fattori di emissione delle N_2O	57
4.1.6.	Global warming potential(GWP)	57
4.1.7.	Produzione di biomassa	58
4.2.	II Prova	59
4.2.1.	Andamento dei flussi di N_2O	59
5.	Conclusioni	63
5.1.	I Prova	63
5.2.	II Prova	63
6.	Bibliografia	I

1. INTRODUZIONE

Dalla seconda metà del secolo scorso è stata osservata una tendenza all'aumento delle concentrazioni in atmosfera dei principali gas ad effetto serra: biossido di carbonio (CO_2), protossido d'azoto (N_2O) e metano (CH_4). L'incremento di questi gas è causato principalmente dalle attività antropiche, in particolare dalla sostituzione dei sistemi terrestri naturali con i sistemi agricoli industrializzati. L'incremento dei gas serra in atmosfera, dall'inizio dell'era industriale, ha causato diverse modificazioni alle condizioni climatiche. È stato stimato che l'effetto serra attuale può comportare un aumento della temperatura globale di circa 2°C rispetto alle temperature attuali, con un riscaldamento di circa $1-3^\circ\text{C}$ nelle regioni del Mediterraneo (IPCC, 2001a; Rapporto WWF, 2005).

Tale riscaldamento, caratterizzato soprattutto da giornate calde nel periodo estivo, potrebbe ridurre le precipitazioni, aumentando il rischio di incendi boschivi e riducendo la resa delle colture (IPCC, 2001a).

L'Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) ha stimato che le concentrazioni di gas serra in atmosfera, quali CO_2 , CH_4 , N_2O sono aumentate rispettivamente del 31%, 151% e 17% in circa 150 anni (Bouwman *et al.*, 1990; IPCC, 2001).

Il Global Warming Potential, che esprime il contributo all'effetto serra dato da una emissione gassosa in atmosfera, dell' N_2O è circa 300 volte maggiore di quello della CO_2 e la sua concentrazione continua ad aumentare di circa lo 0,25 % all'anno (IPCC, 2001); inoltre questo gas contribuisce alla distruzione dell'ozono (O_3) stratosferico (Crutzen, 1970; Davidson, 1991). È stato stimato che tale aumento contribuisce per il 5-6% al riscaldamento globale (Leagreid *et al.*, 1999).

L'aumento della concentrazione di protossido di azoto in atmosfera è dovuto dall'aumento dell'utilizzo di azoto reattivo (Nr) nell'ecosistema. Secondo Galloway (2004) l'azoto reattivo include forme inorganiche ridotte

di N (NH_3^- , NH_4^+), forme inorganiche ossidate (NO_x , HNO_3 , N_2O , NO_3^-) e composti organici (urea, ammine, proteine, acidi nucleici).

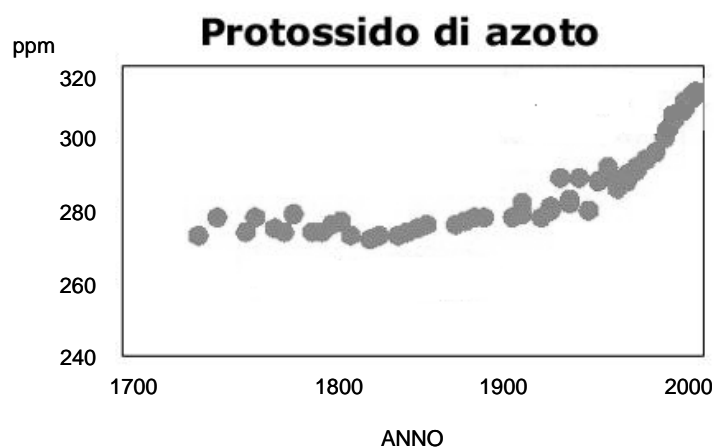


Figura 1. Aumento delle Emissioni di protossido di azoto dal 1750 ad oggi (IPCC 2007)

Le emissioni di N_2O possono provenire da fonti antropiche e naturali. Le fonti antropiche sono fertilizzanti a base di azoto, residui colturali, processi industriali, combustione di biomasse e produzione animale. Le fonti naturali sono gli oceani e le foreste tropicali. I sistemi agricoli contribuiscono in maniera sostanziale all'aumento in atmosfera per circa 80% a seguito dell'aumento dell'uso di fertilizzante azotato nei terreni agricoli. La produzione di N_2O nel suolo avviene attraverso il processo ossidativo della nitrificazione e il processo riduttivo della denitrificazione (Davidson, 1991).

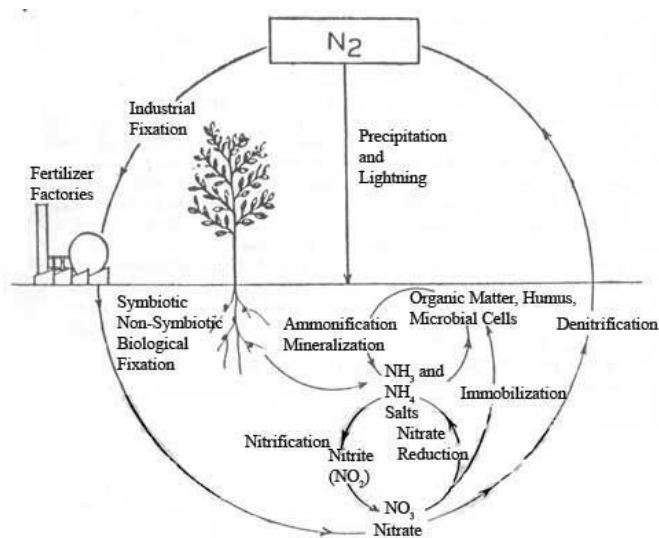


Figura 2. ciclo dell'azoto

1.1. L'AZOTO IN ATMOSFERA E IN AGRICOLTURA

Negli agroecosistemi la concimazione azotata ha il compito di assicurare alle piante coltivate una quantità di azoto utilizzabile sufficiente per il loro accrescimento in ogni momento del ciclo colturale e al contempo di ridurre le perdite, senza impoverire né arricchire il suolo.

I processi fisici, chimici e biologici che interessano l'azoto in un agroecosistema possono essere raggruppati in:

- 1) processi di arricchimento del terreno (fissazione atmosferica, fissazione biologica e concimazione azotata).

La fissazione atmosferica consiste nella riduzione dell'azoto molecolare dell'atmosfera in azoto ammoniacale o in ossidi di azoto ad opera della radiazione solare e dei fulmini, che forniscono l'energia necessaria per la rottura della molecola di azoto. I due atomi risultanti sono estremamente reattivi e possono legarsi all'ossigeno (formando ossidi di azoto), o all'idrogeno (formando ammoniaca) e, successivamente, verranno trasportati al suolo con le precipitazioni atmosferiche.

La fissazione biologica consiste nella riduzione dell'azoto molecolare dell'atmosfera in azoto ammoniacale ad opera dei microrganismi del terreno. Si divide in non simbiotica e simbiotica. La fissazione non simbiotica è ad opera di microrganismi che vivono liberi nel terreno, i quali dipendono indirettamente dai vegetali per l'apporto energetico oppure, come nel caso dei batteri fotosintetici e delle alghe azzurre, ricavano energia direttamente dalla luce solare. La riduzione simbiotica è ad opera di alcuni microrganismi che vivono in simbiosi con organismi vegetali (normalmente piante superiori), dai quali ricevono energia e sostanze nutritive. Questi microrganismi riescono a rompere il triplo legame covalente dell'azoto elementare (N_2) grazie alla presenza dell'enzima nitrogenasi. Sono azoto-fissatori simbiotici i batteri del genere *Rhizobium* e *Actinomyces*. In agricoltura, le specie appartenenti al genere *Rhizobium*, simbiotici delle leguminose, sono gli azotofissatori più importanti.

- 2) processi di modificazione della forma fisica, chimica e biologica dei composti dell'azoto presenti nel terreno (immobilizzazione, mineralizzazione e nitrificazione).

L'immobilizzazione dell'azoto è definita come la trasformazione dell'azoto minerale in azoto organico. Questa trasformazione è dovuta all'azione dei microrganismi del terreno che assimilano i composti inorganici dell'azoto e li trasformano in composti organici all'interno della loro biomassa. L'azoto viene così incorporato nella sostanza organica e sottratto all'assorbimento delle piante.

La mineralizzazione dell'azoto consiste nella trasformazione delle sostanze organiche contenenti azoto in idrato d'ammonio, mediante l'azione di diversi organismi saprofiti (*Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*).

La nitrificazione consiste nella progressiva ossidazione dell'ammonio in ione nitrito tramite i batteri nitrosi (*Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*) e la successiva ossidazione del ione nitrito a ione nitrato tramite i batteri nitrifici (*Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrococcus*).

- 3) processi di impoverimento del terreno (denitrificazione, volatilizzazione, lisciviazione).

La denitrificazione consiste nella progressiva riduzione dei nitrati e/o dei nitriti che vengono trasformati in composti gassosi, come l'azoto molecolare (N_2) o il protossido d'azoto (N_2O).

La volatilizzazione è un processo durante il quale l'azoto ammoniacale del terreno viene trasferito nell'atmosfera, sotto forma di ammoniaca.

La lisciviazione è il movimento dell'azoto, ad opera delle acque di percolazione, lungo il profilo del suolo fino a oltrepassare lo strato interessato dall'apparato radicale delle piante. Tale fenomeno può creare una perdita nutrizionale ed economica nonché un inquinamento delle acque di falda.

1.2. L'INQUINAMENTO AMBIENTALE DA AZOTO PROVENIENTE DAL SUOLO AGRICOLO

L'incremento dell'emissione di N_2O da suoli agricoli è dovuto principalmente all'input di N, proveniente dai fertilizzanti minerali o dal letame utilizzati nelle pratiche colturali, che stimolano i processi biologici che avvengono nel suolo (Kroezer *et al.*, 1999)

Il protossido di azoto viene originato da processi di nitrificazione e denitrificazione.

La conversione di N organico e N inorganico all'interno del suolo è un processo molto complesso che coinvolge una serie di organismi e processi chimici. L'essere umano ha contribuito ad alterare la natura di questo ciclo dei nutrienti rendendo tali forme di N molto più disponibili.

L'azoto è uno dei nutrienti più limitante per la crescita delle piante perché, nonostante la maggior parte delle colture sia in grado di assorbire l'azoto in forma nitrica, ammoniacale e in molecole organiche molto semplici, come l'urea e alcuni amminoacidi, per poter estrinsecare questa capacità è necessario che le forme di azoto indicate siano effettivamente presenti sulla superficie radicale.

Nel terreno, l'azoto ammoniacale, che è uno ione con carica positiva (NH_4^+), viene adsorbito e trattenuto sulla superficie delle argille e della sostanza organica, trovandosi così nella soluzione circolante del terreno in quantità molto ridotte e per tempi molto brevi. Di contro, l'azoto nitrico, che è uno ione con carica negativa (NO_3^-), si trova quasi completamente disciolto nella soluzione circolante del terreno, all'interno della quale si muove per flusso di massa e può raggiungere con estrema facilità la superficie delle radici ed essere quindi assorbito. Di conseguenza, l'assorbimento dell'azoto da parte della vegetazione avviene quasi esclusivamente a carico della sola forma nitrica.

Lo ione NH_4^+ può essere assorbito sulla superficie delle particelle di argille nel suolo (fissazione micelle) oppure può essere rilasciato dai

colloidi tramite scambio cationico. Una volta liberato nella soluzione circolante, la maggior parte dello ione ammonio può essere alterato chimicamente dai batteri autotrofi (*Nitrosomonas*) in NO_2^- e successivamente, tramite batteri aerobi (*Nitrobacter*), viene convertito in NO_3^- , molecola facilmente lisciviabile.

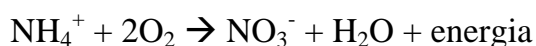
1.3. I PROCESSI DI TRASFORMAZIONE DELL'AZOTO

Lo scambio del protossido di azoto in atmosfera dipende in particolare dai due processi opposti la nitrificazione e la denitrificazione.

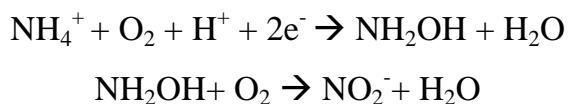
Anche se i due processi avvengono in presenza di differenti condizioni ambientali, possono verificarsi contemporaneamente nel suolo (Wrage *et al.*, 2001), a causa della presenza di micro-siti aerobici ed anaerobici (Abassi *et al.*, 1998).

1.3.1. LA NITRIFICAZIONE

I batteri nitrificanti (*Nitrosomonas*) trasformano l' NH_4^+ a NO_2^- , che poi viene ulteriormente trasformato in NO_3^- da altre specie batteriche quali *Nitrobacter* e *Nitrosolobus*. Questi microorganismi utilizzano l'ossidazione dei composti azotati inorganici come sorgente di energia:



La nitrificazione avviene in due *step* (Haynes, 1986). Nel primo i batteri ossidano l'ammonio a nitrito con la formazione di idrossilammina (NH_2OH) come intermedio di reazione:



Tale reazione è catalizzata dall'enzima ammonio-monossigenasi (AMO) che è localizzato sulla membrana cellulare (Suzuky e Kwok, 1981; Tsang e Suzuky, 1982). L'idrossilammina è la vera fonte di energia: durante la sua ulteriore ossidazione, due dei quattro elettroni prodotti sono trasferiti

nuovamente per l'attività di AMO, mentre gli altri due sono utilizzati per la produzione di energia.

Nel secondo *step* il nitrito viene ossidato dall'enzima nitrito-ossidoreduttasi a nitrato:



Durante l'ossidazione, l'atomo di ossigeno supplementare del nitrato deriva dall'acqua (Alem *et al.*, 1965). I due elettroni liberati dalla reazione originano il flusso di elettroni attraverso la membrana citoplasmatica per la formazione di ATP.

La formazione di N_2O dalla nitrificazione non è un intermedio obbligatorio: in condizioni limitanti di ossigeno, i batteri nitrificanti possono utilizzare l' NO_2^- come accettore finale di elettroni (IFA/FAO, 2001) e trasformarlo in N_2O e in NO .

I fattori che influenzano maggiormente la nitrificazione sono le caratteristiche chimico-fisiche del terreno, soprattutto la presenza di azoto nel suolo, la temperatura, la macroporosità e il contenuto di umidità.

La temperatura ottimale per l'attività dei microrganismi responsabili della nitrificazione è compresa tra 5 e 40 °C, con *optimum* intorno ai 30 °C.

La presenza di ossigeno è un fattore fondamentale per la nitrificazione, trattandosi di un processo aerobico. All'interno del terreno la circolazione e il ricambio dell'aria dipendono dalla presenza di macropori, per cui la nitrificazione procede più velocemente nei terreni sabbiosi rispetto a quelli di medio impasto e argillosi.

Il contenuto di umidità svolge una tripla azione, in quanto la presenza di acqua nel suolo è indispensabile per la vita dei microrganismi ma allo stesso tempo può ridurre l'attività dei batteri allontanando l'ossigeno dal suolo; infine, influenza la temperatura del suolo, con conseguente diminuzione della nitrificazione nei periodi freddi ed incremento nei periodi caldi.

1.3.2. LA DENITRIFICAZIONE

La denitrificazione è un processo di riduzione del nitrato e del nitrito ad azoto molecolare. Molti microrganismi anaerobici (Protobacteria e Archea) possono utilizzare il nitrato come accettore di elettroni per ricavare energia dai composti organici quando nel suolo la disponibilità di O₂ è ridotta, mediante la riduzione graduale in nitrito, monossido di azoto, protossido di azoto e azoto molecolare. Gli elettroni necessari per questa riduzione sono ottenuti dalla materia organica attraverso una catena di trasporto di elettroni:



Il protossido di azoto è un intermedio obbligatorio per i batteri della denitrificazione eterotrofa; la quantità di N₂O ridotta a N₂ può variare notevolmente a causa dell'influenza delle caratteristiche fisico-chimiche del suolo ma anche a seconda delle specie microbiche presenti nel suolo. Infatti, alcune di esse producono in maggior parte N₂, altre danno origine a miscele di N₂O e N₂ attraverso percorsi di riduzione incompleta (Kaplan e Wofsey, 1985; Stouthamer, 1988; Martin *et al.*, 1988; Schmidt *et al.*, 1988; Munch, 1989 e 1991; Robertson e Kuenen, 1991; Zumft, 1997).

Inoltre, altri batteri chemioautotrofi possono produrre N₂O utilizzando NO₃⁻ come accettore di elettroni per l'ossidazione di composti inorganici come S₂ e Fe²⁺ (Golterman, 1991). Questo tipo di denitrificazione autotrofa si verifica in porzioni specifiche come sedimenti di acqua poco profonda, ma l'emissione di N₂O in atmosfera non è così importante come la denitrificazione eterotrofa.

I fattori chiave che influenzano la denitrificazione nel suolo sono: pH, temperatura, nitrati, disponibilità di materia organica labile e aerazione del suolo.

Il *range* ottimale di pH per la denitrificazione è 7.0-8.0 (Bremner e Shaw, 1958; Bryan, 1981), anche se in recenti studi è stato dimostrato che il

pH ottimale può variare a seconda della specie di batteri presenti nel suolo (Simek *et al.*, 2004).

Per quanto riguarda l'aerazione del suolo è stato dimostrato che esiste una relazione inversa tra il tasso di denitrificazione e la concentrazione di O₂ nel suolo (Focht, 1974; Smith, 1980; Betlach e Tiedje, 1981; Parkin e Tiedje, 1984; Burton e Beauchamp, 1985; Arah *et al.*, 1991).

Bassi tassi di denitrificazione sono stati registrati anche a temperature del suolo di -4 °C, anche se la temperatura del suolo ottimale risulta essere di circa 5°C (Vinther, 1990).

1.4. I FATTORI DI CONTROLLO DELLE EMISSIONI DI N₂O

I flussi di protossido generati dai processi biogeochimici nel sottosuolo sono controllati da fattori ambientali. Dato che questi fattori ambientali variano nel tempo e nello spazio, le stime di scambio gassoso tra suolo e atmosfera possono contenere enormi incertezze.

La nitrificazione e la denitrificazione sono processi che possono avvenire simultaneamente e produrre contemporaneamente N₂O (Nielsen *et al.*, 1996; Abbassi e Adams, 1998 e 2000). Nel modello di Davidson "hole in the pipe" (figura 3) il flusso di N₂O dal suolo è influenzato da differenti fattori che agiscono simultaneamente a tre livelli:

I° livello = tassi di nitrificazione e denitrificazione

II° livello = parametri chimico-fisici del suolo

III° livello = velocità di diffusione del gas dalla fase acquosa alla fase gassosa del suolo e velocità di diffusione dalla fase gassosa del suolo all'atmosfera.

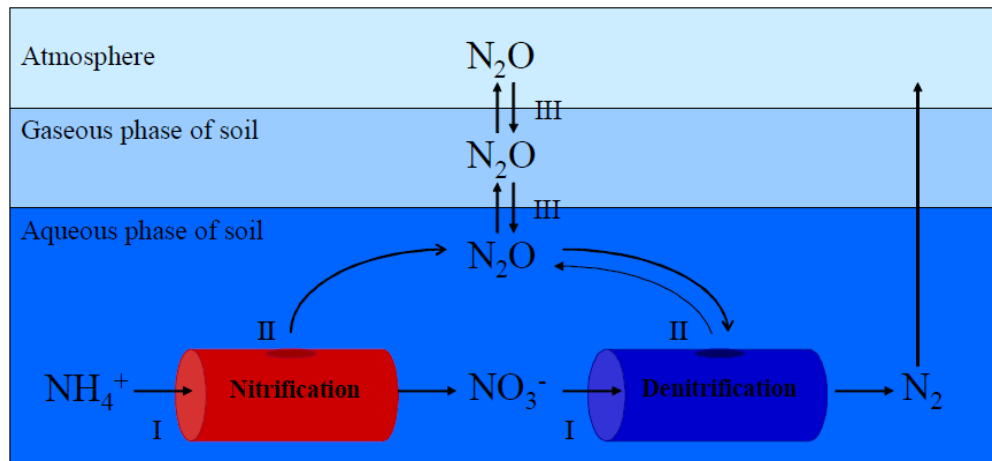


Figura 3. Schema del modello “hole in the pipe” modificato da Davidson, 1991

1.4.1. L’AEREAZIONE DEL SUOLO

La relazione tra l’aerazione del suolo e le emissioni di N_2O è abbastanza complessa in quanto ci sono molti altri fattori in grado di regolare la diffusività del gas all'interno profilo del suolo. In ogni caso molti studi hanno dimostrato che i flussi più elevati di N_2O dal suolo si sono riscontrati quando le condizioni del terreno sono idonee sia per la nitrificazione che per la denitrificazione (Focht, 1974; Kralova *et al*, 1992;. Smith e Patrick, 1983), dato che per entrambi i processi l’ N_2O viene prodotto a livello intermedio (Khdyer e Cho, 1983).

Ad ogni modo, dal momento che i processi di denitrificazione aumentano in condizioni anaerobiche, quando diminuisce l’aerazione nel suolo si può verificare un aumento delle emissioni di N_2O (Dowell e Smith, 1974). Tale aumento avviene fino ad un livello in cui non è più permesso lo scambio di gas tra suolo e atmosfera, e l’unico prodotto finale della denitrificazione è l’azoto molecolare (Granli e Bockman, 1994).

1.4.2. L’UMIDITA’ DEL SUOLO

I regimi di umidità possono influenzare direttamente ed indirettamente la denitrificazione, ad esempio limitando la quantità di O_2 o rendendo disponibili C e N attraverso cicli di bagnatura ed essiccazione del terreno,

fornendo così una diffusione dei substrati e dei prodotti lontano dai microrganismi presenti nel suolo. Tuttavia, l'effetto primario provocato dall'acqua nella produzione di N_2O è quello di limitare i livelli di O_2 e creare in questo modo condizioni di anaerobiosi (Davidson, 1992).

In uno studio effettuato in laboratorio da Schindlbacher *et al.* (2004) è stato osservato che la massima produzione di protossido di azoto avviene ad una percentuale di WFPS (Water Filled Pore Space) del 60-90%, che corrisponde ad un contenuto di acqua di circa 53-80%. In campo, invece, la percentuale di umidità del suolo è tra il 50 e il 65%.

In un suolo asciutto a cui viene somministrata acqua è stato osservato un netto aumento del tasso di emissione di N_2O . In alcuni studi è stato riportato che anche una pioggia di leggera intensità (0.3 mm) può aumentare l'emissione di N_2O del 10% rispetto ad un suolo in condizioni di asciutto (Williams *et al.*, 1992). Questo fenomeno è molto importante nei climi tropicali e subtropicali, in cui sono ben distinte le stagioni secche e umide: all'inizio della stagione delle piogge si registrano elevate emissioni di protossido di azoto (Davidson *et al.*, 1991). L'entità dell'emissione sembra essere correlata alla durata del periodo di siccità e diminuisce se il suolo, in seguito, è continuamente bagnato. Probabilmente, tale fenomeno è causato dal progressivo esaurimento delle sostanze nutritive che si sono accumulate nel periodo di siccità (Johansson *et al.*, 1988; Davidson *et al.*, 1991).

Tuttavia non è ancora ben chiara la relazione tra umidità del suolo e flussi di N_2O perché essa regola sia i processi di nitrificazione sia i processi di denitrificazione presenti maggiormente nel suolo.

Nella figura 4 è mostrato il modello proposto da Davidson per la relazione tra il WFPS e la quantità di N_2O prodotta attraverso i processi di nitrificazione e denitrificazione.

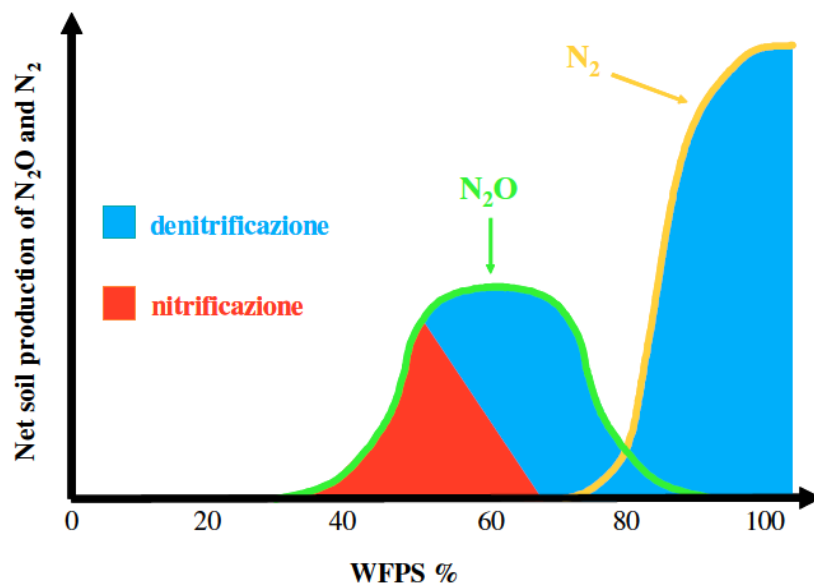


Figura 4. Relazione tra i valori di WFPS e l’N₂O prodotto attraverso la nitrificazione e la denitrificazione (Davidson, 1991).

1.4.3. L’AZOTO DISPONIBILE NEL SUOLO

In molti studi è stato riportato che la disponibilità di azoto nel suolo ha un forte impatto sui tassi di emissione di N₂O. Per quanto riguarda la denitrificazione è stato osservato che la presenza di NO₃⁻ nel suolo può inibire o ritardare l'attività dell'enzima ossido nitroso reduttasi (Bremner e Blakmer, 1978; Cho e Mills, 1979).

Non è stato ancora chiarito il modo in cui il nitrato influenza l’attività enzimatica, in quanto esso potrebbe essere utilizzato come accettore di elettroni al posto di N₂O durante la denitrificazione oppure svolgere una vera e propria azione inibitoria.

Inoltre, è stato osservato che la concentrazione di NO₃⁻ tra 10 a 30 mg NO₃⁻ - N Kg⁻¹ sono sufficienti a ridurre o ritardare la produzione di N₂O, tale concentrazione “critica” può variare tra i tipi di suolo e a seconda delle interazioni tra fattori quali il pH (Bremner e Blakmer, 1978; Cho e Mills, 1979) o il contenuto d'acqua (Terry e Tate, 1980; Aulakh *et al.*, 1984; Bowman, 1990).

Per quanto riguarda la nitrificazione, è stata osservata una maggiore produzione di N₂O dal suolo all’aumentare del contenuto di NH₄⁺ (Yoshida

e Alexander, 1970; Blakmer *et al.*, 1980). Tuttavia, gli studi svolti sull'argomento non sono sufficienti a spiegare il fenomeno in maniera chiara.

1.4.4. IL PH DEL SUOLO

Il pH sembra influenzare la produzione di N_2O terreno nel suolo a seconda di quale dei due processi (nitrificazione e denitrificazione) sono maggiormente presenti. Molti studi hanno mostrato una riduzione del rapporto N_2O/N_2 quando il pH raggiunge valori neutri o sub alcalini (Nommik, 1956; Burford e Bremner, 1975) I valori ottimali di pH per la denitrificazione sono compresi tra 6 e 7. La dipendenza delle emissioni di N_2O tramite la nitrificazione sembra essere più complessa, dal momento in cui diversi autori hanno ottenuto risultati molto contrastanti. Pertanto non c'è una chiara tendenza per la produzione di N_2O attraverso la nitrificazione con il cambiamento del pH del terreno.

1.4.5. LA TEMPERATURA DEL SUOLO

Considerato che la produzione di protossido di azoto è principalmente causata da processi microbici, ci si può aspettare che la temperatura del suolo influenzi i tassi di emissione. In molti studi è stato dimostrato che all'aumentare della temperatura del suolo si riscontra un aumento delle emissioni di N_2O . Questa risposta è dovuta al fatto che i processi enzimatici generalmente aumentano in maniera esponenziale con la temperatura fino a quando altri fattori, come disponibilità di substrato o umidità, non diventino limitanti.

1.4.6 IL CONTENUTO DI SOSTANZA ORGANICA

Molti studi hanno trovato una correlazione significativa tra i flussi di protossido e il contenuto di sostanza organica nel suolo, dimostrando che i suoli organici sembrano produrre più N_2O rispetto ai suoli minerali

(Duxbury *et al.*, 1982). Per quanto riguarda la denitrificazione, in alcuni studi è stato riportato che all'aumentare del contenuto organico facilmente degradabile all'interno del suolo, il rapporto N_2O/N_2 si riduce, in quanto la sostanza organica sembra promuovere una completa riduzione del N_2O a N_2 (Nomik, 1956; Elliot *et al.*, 1990).

Quando nel suolo aumenta la concentrazione di carbonio labile, aumentano le emissioni di N_2O attraverso la denitrificazione. Tale processo è dovuto all'aumento di substrato di reazione, con consumo di O_2 e sviluppo di microsites anaerobici nel suolo, di conseguenza, si ottiene miglioramento generalizzato dell'attività microbica.

Allo stesso modo, la limitazione di O_2 causata dalla valorizzazione dell'attività microbica è in grado di ridurre il tasso di nitrificazione e di aumentare la quantità di N_2O prodotto. Tuttavia, se la materia organica ha un elevato rapporto C/N esso stimola l'immobilizzazione di NH_4^+ nel suolo, diminuendo l'emissione di N_2O tramite la nitrificazione a causa della competizione per l'azoto minerale con le piante (Granli e Bockman, 1994).

1.4.7 LA TESSITURA DEL SUOLO

I suoli con diversa tessitura mostrano differenti propensioni molto diverse alle emissioni di N_2O .

I suoli argillosi, avendo maggiore capacità idrica di campo e contenuto di colloidali, mostrano una tendenza maggiore alla produzione di N_2O (McKenney *et al.*, 1980; Webster e Dowdell, 1982; Matson *et al.*, 1990).

Considerato che la porosità del suolo e il contenuto di acqua sono parametri chiave che influenzano la diffusione del gas, nei terreni argillosi con WFPS molto alta la diffusione di N_2O dal terreno può essere limitata, e una quantità notevole di N_2O può essere ridotta a N_2 prima di fuoriuscire dal suolo (Arah *et al.*, 1991). Al contrario, i terreni sabbiosi, caratterizzati da minore potenziale di emissione di N_2O , ne permettono una maggiore fuoriuscita (Granli e Bockman, 1994).

In suoli con tessitura fine è favorito il processo anaerobico di denitrificazione, mentre in suoli con tessitura grossolana è favorito il processo aerobico della nitrificazione. In ogni caso la quantità totale di N_2O prodotto e il processo prevalente responsabile di tale produzione possono facilmente cambiare a seconda delle caratteristiche fisico-chimiche del suolo.

1.5. LE PRATICHE AGRICOLE COME FONTE DI N_2O

1.5.1 L'IRRIGAZIONE

L'irrigazione rappresenta uno strumento fondamentale per aumentare la produttività dei terreni coltivati, soprattutto nelle regioni mediterranee, dove l'aridità e il conseguente *deficit* idrico sono caratteristiche permanenti nel periodo estivo. Tale stress idrico è drasticamente aumentato negli ultimi decenni nei paesi mediterranei come la Spagna, il Portogallo e gran parte del Regno Unito, Italia e Francia (WWF Report, 2006). Oggi quasi il 40% del raccolto mondiale viene da coltivazioni irrigue, per cui l'attenzione è rivolta all'ottenimento di strategie di irrigazione che migliorino l'efficienza d'uso dell'acqua, per ottenere buoni livelli produttivi e il contenimento del consumo idrico; allo stesso tempo si cercano metodi irrigui tali da ridurre i rischi di salinizzazione del suolo e ristagno idrico.

Diversi autori hanno rilevato picchi dei flussi di N_2O dai suoli a seguito di eventi irrigui, in conseguenza di una maggiore attività di denitrificazione. (Freney *et al.*, 1985; Ryden e Lund, 1980; Teira-Esmatges, 1998; Sánchez *et al.*, 2001; Vallejo *et al.*, 2004) In alcune prove sono state verificate emissioni elevate di protossido di azoto quando l'irrigazione viene effettuata contemporaneamente o subito dopo la concimazione azotata (Ryden *et al.*, 1979; Mosier e Hutchinson, 1981; Webster e Dowdell, 1982; Su *et al.*, 1990, Hutchinson e Brams, 1992).

Gli effetti dell'irrigazione sui flussi di protossido di azoto e di conseguenza le strategie più efficaci da porre in atto nella gestione della

risorsa idrica non sono stati finora indagati in maniera approfondita, soprattutto nella regione del Mediterraneo.

1.5.2. LE LAVORAZIONI DEL TERRENO

Le lavorazioni del terreno stimolano l'ammonificazione dell'azoto organico e la conseguente nitrificazione, ma contemporaneamente, lasciano il terreno senza copertura vegetale per un certo periodo di tempo, creando quindi le condizioni per una possibile perdita di nitrati.

L'aratura è una delle lavorazioni del terreno più eseguita in sistemi agricoli tradizionali per migliorarne l'aerazione e per incorporare i residui vegetali. In ogni caso, l'uso eccessivo di tale lavorazione, può accelerare l'esaurimento della materia organica nel suolo, con conseguente perdita di fertilità del suolo e aumentando il rischio di erosione (Martel e MacKenzie, 1980; Hussain *et al.*, 1999).

In letteratura non sono presenti molte indagini riguardanti gli effetti delle lavorazioni sulle emissioni di protossido di azoto dal suolo; inoltre, molte di esse hanno ottenuto risultati contrastanti: alcuni autori (Matthias *et al.*, 1980; Bremner e Blackmer, 1980) hanno riscontrano un aumento dei flussi di N_2O dal suolo per un breve periodo dopo le lavorazioni al terreno, probabilmente per una maggiore aerazione del suolo; in altri studi, invece, sono stati osservati tassi di denitrificazione ed emissioni di N_2O da suoli indisturbati superiori rispetto a quelli arati (Burford *et al.*, 1981; Aulak *et al.*, 1984; Lind e Doran, 1984; Staley 1990), mentre Elmi (Elmi *et al.*, 2003) non riporta differenze significative tra il suolo non lavorato e quello lavorato per quanto riguarda la denitrificazione e l'emissione di N_2O .

Per ciò che concerne l'effetto della compattazione del suolo sulle emissioni di N_2O , i risultati sono stati tuttavia concordanti, dimostrando che la maggiore compattazione del suolo sembra provocare l'aumento sia del tasso di denitrificazione (Bakken *et al.*, 1987; Torbert e Wood, 1992) che dell'emissione di N_2O (Hansen *et al.*, 1993; Ruser *et al.*, 2006),

evidentemente in conseguenza di una riduzione dei macropori nel terreno e quindi di una limitazione della disponibilità di O_2 lungo il profilo del suolo.

1.5.3. LA CONCIMAZIONE

La concimazione delle colture comprende l'insieme delle pratiche volte a favorire la nutrizione delle piante mediante l'apporto degli elementi nutritivi e attraverso il miglioramento delle caratteristiche del terreno che influenzano lo sviluppo e la capacità di assorbimento delle radici.

La concimazione è una delle tecniche che maggiormente influenzano il risultato produttivo, in termini quantitativi e qualitativi. La sua applicazione razionale è indispensabile per mantenere un adeguato livello di fertilità nel terreno, evitare squilibri nutrizionali a carico della coltura e ridurre l'impatto ambientale.

Una questione cruciale di carattere ambientale è rappresentata dall'uso inappropriato di fertilizzanti a base di azoto, che, oltre ad avere conseguenze negative a seguito della lisciviazione di NO_3^- dal sistema suolo, può anche causare enormi emissioni di N_2O nell'atmosfera.

Infatti, la disponibilità di N minerale (NO_3^- e NH_4^+) è un regolatore chiave per i processi microbici coinvolti nella evoluzione dell' N_2O dal suolo, quindi le emissioni di protossido di azoto aumentano notevolmente attraverso l'applicazione dei fertilizzanti minerali. Diversi studi hanno riscontrato un marcato aumento delle emissioni di N_2O dopo l'applicazione di concimi azotati, sia minerali (Bremner e Blackmer, 1980; Bremner *et al.*, 1981; Duxbury *et al.*, 1982; Conrad *et al.*, 1983; Su *et al.*, 1990; Tsuruta *et al.*, 1993; Dambreville *et al.*, 2006) sia biologici (Arcara *et al.*, 1999; Vallejo *et al.*, 2003; 2004; McSwiney e Robertson, 2005). L'aumento dei flussi di N_2O è spesso registrato subito dopo la fornitura di azoto o dopo un periodo di alcuni giorni, legato sia a processi di denitrificazione (Arcara *et al.*, 1999; Vallejo *et al.*, 2003; 2004; Dambreville *et al.*, 2006) che di nitrificazione (Hutchinson e Rams, 1992).

Visto che l'azoto svolge un ruolo fondamentale nella coltivazione, numerosi studi sono ancora in corso per valutare alcune tecniche di miglioramento dell'efficienza dei fertilizzanti azotati, tra cui ricordiamo l'adozione di sistemi di gestione specifici per le diverse colture, l'utilizzo di sensori per il monitoraggio degli apporti di azoto al suolo e l'introduzione di varietà azoto-fissatrici.

Un altro sistema per aumentare l'efficienza della concimazione azotata consiste nell'impiego di concimi con l'aggiunta di un inibitore della nitrificazione (Koing, 1983).

Gli inibitori della nitrificazione sono composti chimici che ritardano l'ossidazione batterica dell' NH_4^+ a NO_2^- nel suolo per un periodo di tempo. Trattando i concimi con gli inibitori, viene resa graduale l'assimilazione di azoto da parte delle piante, contenendo quindi le perdite per lisciviazione.

In uno studio effettuato da Guiraud e Marol (1992) è stato riportato che la quantità di NO_3^- presente nel suolo in cui era stato utilizzato il concime con inibitore era significativamente inferiore ad un controllo senza inibitore.

Visto che NO_3^- è considerato la fonte maggiore di perdita di azoto (lisciviazione e denitrificazione), l'inibitore della nitrificazione può contribuire a ridurre i problemi di carattere ecologico e aumentare l'efficienza dei concimi azotati.

I vantaggi pratici sono:

- 1) Riduzione significativa del rischio di lisciviazione di NO_3^- (Scheffer *et al.*, 1998);
- 2) Diminuzione dell'emissione di gas serra (N_2O) (Weiske *et al.*, 2001; Linzmeier *et al.*, 2001);
- 3) Maggiore concentrazione di NH_4^+ nel suolo, generando un aumento del rendimento (Pasad e Power, 1995);
- 4) Maggiore utilizzo di azoto da parte delle piante (Zerulla e Lutz, 1992);

5) Minore carico di lavoro per i coltivatori a causa dei tempi più flessibili per l'applicazione dei fertilizzanti (Dachler, 1993).

La ricerca sull'utilizzo di inibitori per la nitrificazione è stata iniziata nel 1950. Sono stati immessi sul mercato diversi prodotti, tra i quali solo alcuni hanno una reale valenza commerciale, come nitrapyrin (2-Chloro-6-(trichloromethyl pyridine) nel mercato statunitense e diciandiamide (DCD) nel mercato europeo.

I due prodotti, oltre ai vantaggi descritti sopra, presentano tuttavia anche alcuni svantaggi significativi:

In particolare, il DCD:

- 1) molto costoso per l'utilizzo in vasta scala;
- 2) la sua efficienza è bassa, in quanto sono necessarie dosi elevate per osservare una soddisfacente inibizione della nitrificazione;
- 3) altamente solubile, quindi precipitazioni o irrigazioni intense possono traslocare il prodotto lungo il profilo con conseguente separazione tra inibitore e ioni NH_4^+ da stabilizzare;
- 4) provoca problemi fitotossici, specialmente agli ortaggi da foglia.

Gli svantaggi del Nitrapyrin sono:

- 1) impossibilità di mescolamento con concimi solidi;
- 2) Utilizzo esclusivamente insieme all'additivo NH_3 anidro per le applicazioni pre-invernali negli Stati Uniti;
- 3) appartenenza al gruppo di composti cloro-organici, con conseguenti eventuali problemi di rilascio nell'ambiente;
- 4) Problemi tossicologici dovuti a caratteristiche di corrosività ed esplosività.

Nell'ultimo decennio è stato introdotto il 3,4 Dimetilpirazolofofosfato (DMPP; ENTEC), che è stato sottoposto a diversi test tossicologici e ecotossicologici in osservanza della normativa europea relativa alle sostanze di nuova introduzione.

In nessuno dei test sono stati osservati effetti tossici, quindi è stato registrato a livello internazionale.

Le proprietà del DMPP sono:

- 1) efficacia a dosi molto bassi;
- 2) formulazione in granuli adatta sia per concimi prettamente azotati che per concimi complessi;
- 3) durata di azione dipendente dalle condizioni climatiche e dalle caratteristiche del suolo;
- 4) diminuzione dell'emissione di N_2O , senza effetto negativo sull'ossidazione di CH_4 del suolo (Weiske *et al.*, 2001);
- 5) Aumento dei rendimenti;
- 6) Possibile riduzione dell'applicazione di fertilizzanti (Wozniak *et al.*, 1997).

1.6. IL METANO

Gli ecosistemi giocano un ruolo fondamentale nel ciclo del carbonio globale dal momento che essi sono produttori di importanti gas serra: metano (CH_4), anidride carbonica (CO_2), protossido di azoto (e.g. N_2O).

Benché la concentrazione in atmosfera di metano sia bassa rispetto a quella dell'anidride carbonica (1,75 ppm vs 367 ppm), la sua elevata capacità di assorbire radiazione infrarossa e di ridistribuire l'energia entro l'atmosfera a diverse lunghezze d'onda fa attribuire a questo gas un potenziale di riscaldamento globale (GWP) 23 volte superiore a quello della CO_2 , prendendo in considerazione un orizzonte temporale di 100 anni (IPCC, 2001).

La maggior percentuale di metano globale prodotta annualmente è di origine antropogenica (dal 55 al 70%); le maggiori fonti di emissione sono:

- fonti naturali (23%), come gli oceani, alcune specie di insetti (termiti), ruminanti selvatici, ecosistemi terrestri umidi (paludi);
- estrazione dai combustibili fossili (20%);
- decomposizione di rifiuti solidi urbani nelle discariche (circa il 18%);
- animali ruminanti, per i processi di digestione (17%);
- risaie, per la presenza di particolari batteri (12%);
- combustione di biomassa, soprattutto per riscaldamento o digestione anaerobica (circa il 10%).

La metanogenesi è l'ultimo passaggio della catena di degradazione della sostanza organica in ambiente anaerobico, dal momento che è necessaria la presenza di un substrato organico prodotto da altri batteri da usare come fonte di energia per l'attività metabolica dei batteri anaerobi. Il metano viene emesso in qualità di scarto dell'attività respiratoria delle comunità batteriche anaerobiche.

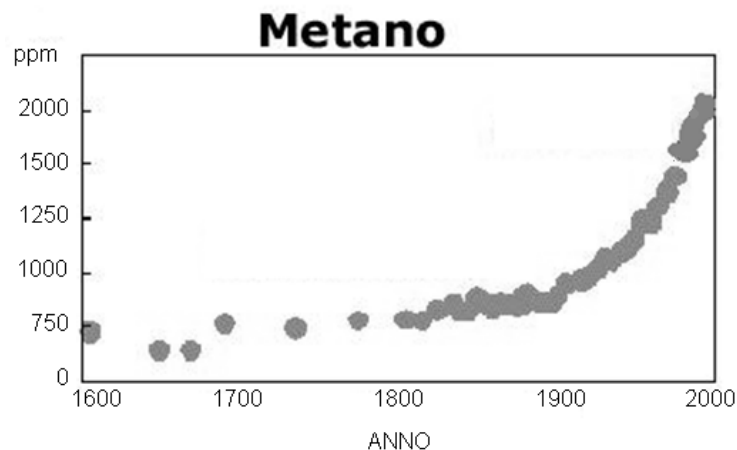
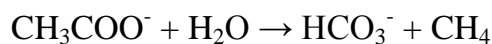
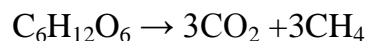


Figura 5. Aumento delle Emissioni di metano dal 1750 ad oggi (IPCC 2007)

Il primo passaggio della decomposizione anaerobica della sostanza organica è l'idrolisi. La cellulosa e gli altri polisaccaridi più labili vengono quindi rapidamente idrolizzati a monomeri ad opera di enzimi cellulari prodotti da batteri fermentatori. I monomeri, ad esempio il glucosio, servono da substrato ai fermentatori primari, i quali rilasciano composti semplici quali acidi grassi, idrogeno, CO₂ e alcoli. I monomeri possono essere alternativamente catalizzati in acetato e quest'ultimo può servire da substrato diretto per la produzione di metano da parte di batteri metanogenici acetotrofici. In realtà, solo il 30% del glucosio viene trasformato in metano a partire da CO₂, mentre la maggior parte di esso (70%) fermenta in acetato (CH₃COO⁻), e viene quindi trasformato in CH₄.

Metanogenesi:



Il metano così prodotto nel suolo viene trasportato in superficie attraverso 3 vie:

- 1) per ebollizione (emissioni di bolle di metano), quando i pori d'acqua sono super-saturi di gasmetano;
- 2) per diffusione, ossia attraverso l'acqua del suolo lungo un gradiente di concentrazione;

3) per via-aerenchima, ossia attraverso le radici e i tessuti di certe piante vascolari. Alcune specie vegetali hanno infatti sviluppato uno spazio fisico interno alla pianta per assicurare il trasporto di ossigeno (e quindi di gas in genere) alle radici che vivono in un ambiente asfittico (Koncalova, 1990; Armstrong *et al.*, 1991). L'apparato radicale di queste piante vascolari tende ad essere meno superficiale di altre specie che non hanno sviluppato tale adattamento, perciò sono in grado di penetrare negli strati anossici, consentendo in un senso la penetrazione di carbonio negli strati più profondi del suolo (Malmer *et al.*, 1994) e nel senso opposto la fuoriuscita di metano per via aerenchimatica.

La componente di sostanza organica che non viene degradata per via aerobica entra a far parte degli strati anossici dello strato attivo, e la decomposizione avviene a tasso assai ridotto (Clymo e Pearce, 1995).

Quando nel suolo è presente sufficiente ossigeno per reagire col metano, come succede nella maggior parte dei suoli ben aerati (almeno negli strati più superficiali), allora si ha il processo inverso, indotto da batteri metanotrofi.

Questo meccanismo è catalizzato dall'enzima monossigenasi (MOM) che converte il metano e l'O₂ e riduce gli equivalenti a metanolo ed H₂O. Metanotrofi:

MMO



I batteri metanotrofi utilizzano tre metodi per consumare il metano, ma ognuno di essi inizia con la conversione del metano a formaldeide (Mancinelli, 1995).

I batteri possono poi catturare l'energia dalla conversione della formaldeide a CO₂ e H₂O (Paul e Clark, 1996), oppure, attraverso il metodo del ribuloso monofosfato essi assimilano la formaldeide e la convertono in differenti molecole di carbonio per usarle come biomassa (Mancinelli,

1995). Il terzo sistema è quello della serina, con cui i metanotrofi assimilano la formaldeide e la convertono ad acidi carbossilici e amminoacidi usati per produrre biomassa (Mancinelli, 1995).

L'assorbimento di CH_4 dall'atmosfera e la metanogenesi sono quindi funzione della concentrazione e della disponibilità di ossigeno nel suolo, e nel momento in cui subentrano condizioni di anossia sono necessari alcuni giorni (a volte settimane) perché si generi un flusso di metano significativo.

I due fenomeni possono coesistere in uno stesso suolo, per esempio a profondità diverse, o entro nicchie microscopiche differenziate del complesso sistema suolo. In generale, la metanotrofia ha luogo in prossimità delle radici, o negli strati superficiali di suolo a contatto con l'aria. In media il 10-40% del metano prodotto in suoli saturi viene emesso in atmosfera (Conrad, 1996); in quantità molto più piccole sono prodotti ed emessi altri gas quali N_2O , NO , gas sulfurei, ma tali quantità sono percentualmente trascurabili rispetto alle emissioni degli stessi gas per cause antropogeniche.

Le emissioni naturali di metano variano stagionalmente e annualmente in funzione della temperatura del suolo, della stagione vegetativa e del grado di saturazione del suolo. Ecosistemi che sono umidi solo parte dell'anno hanno un'emissione di metano limitata al periodo umido e tale emissione varia nel tempo. Ecosistemi asciutti invece sono naturali assorbitori (*sinks*) di metano. Ne deriva quindi che i fattori preponderanti nel determinare una produzione/assorbimento di metano e un flusso verso dall'atmosfera sono le caratteristiche del suolo e del clima e il tipo di vegetazione.

1.6.1. IL CARBONIO NEL SUOLO

La comprensione del ruolo dei suoli quali *sink* o *source* di carbonio su scala globale è diventato un punto cruciale per la ricerca scientifica negli ultimi decenni, per la valutazione globale dei cambiamenti di concentrazione di anidride carbonica atmosferica e gas serra, in continuo

aumento nell'ultimo secolo. E' noto che nei suoli del pianeta è accumulata la maggiore riserva di carbonio degli ecosistemi terrestri, contenendo essi il 75% del carbonio terrestre totale (Eswaran *et al.*, 1993). Qualunque forma di alterazione o di distruzione dei suoli a causa dei cambiamenti climatici o della pressione antropica (cambio di uso del suolo per scopi agricoli, urbanistici *etc...*), influisce direttamente sulle riserve di carbonio globale, e ha un impatto nel bilancio globale del carbonio atmosferico.

Tuttavia, per quanto approssimativa sia la classificazione del contenuto di carbonio nei suoli, è riconosciuto il ruolo chiave degli ecosistemi di torbiera nello stoccaggio di carbonio nel suolo a livello globale.

Per quanto riguarda i flussi di CH₄, a causa delle relative caratteristiche climatiche e geomorfologiche, la maggior parte della penisola italiana è caratterizzata da suoli aerobici e quindi può essere considerata un *sink* di CH₄ atmosferico. L'uso del suolo e la conversione delle foreste ad uso agricolo, tuttavia, contribuisce alla significativa diminuzione del potenziale di rimozione atmosferica di CH₄ dei suoli italiani.

2. SCOPO DEL LAVORO

Le attività agricole contribuiscono direttamente ed indirettamente alla produzione ed emissione di gas serra: anidride carbonica (CO₂), metano (CH₄) e protossido di azoto (N₂O).

Nel protocollo di Kyoto, firmato dai paesi industrializzati nel 1997 uno dei punti cruciali è quello di fornirne l'esatta proporzione. L'articolo 2 stabilisce che i paesi firmatari devono migliorare l'uso energetico nei diversi settori dell'economia, agricoltura inclusa; l'art. 10 invita le nazioni a strutturare piani nazionali e regionali per ridurre le emissioni dal settore agricolo.

Quindi, l'obiettivo del presente lavoro è stato quello di monitorare i gas serra per fornire un *database* necessario per quantizzare il contributo dell'agricoltura europea su tale problematica ambientale; per far ciò sono stati misurati il metano ed il protossido di azoto emessi dal suolo coltivato a mais in un'azienda tipica della pianura irrigua meridionale.

I monitoraggi sono stati svolti nell'ambito del progetto NitroEurope (VIPQ) che si occupa di analizzare il ciclo dell'N e le sue interazioni con il ciclo del C nel territorio europeo.

Si è voluto, inoltre, quantizzare la riduzione delle emissioni di protossido di azoto utilizzando un concime a lento rilascio senza condizionarne le performance produttive. All'uopo si è sperimentato l'utilizzo di un concime con inibitore (Entec) rispetto ad un classico concime minerale ed un testimone non concimato su una cultivar di patata in un tipico ambiente mediterraneo.

3. MATERIALI E METODI

3.1. I PROVA

3.1.1 AREA DI STUDIO

Il monitoraggio dei flussi dei gas serra è stato condotto presso l'azienda Agricola di Gaetano Iemma, sita nella piana del Sele, a Borgo Cioffi (Comune di Eboli) (4486080 N, 496470 E) (figura 6) a circa 25 Km NE da Salerno.



Figura 6. Immagine satellitare del campo sperimentale Borgo Cioffi

Le attività di monitoraggio nel sito hanno avuto inizio nel 2006 nell'ambito del progetto europeo NitroEurope.

Le mie attività di monitoraggio sono iniziate nel 2009 in collaborazione con il CNR (Centro Nazionale Ricerche) Isafom di Ercolano Napoli.

La stazione di monitoraggio è situata a circa 20 m sul livello del mare, distante circa 5 km a Sud-Ovest. Il campo (di proprietà della stessa azienda Iemma), all'interno del quale sono condotte tutte le attività sperimentali, è di 16 ettari e fa parte di una superficie più estesa di circa 150 ettari totali.

La forma del campo sperimentale è approssimativamente rettangolare con i lati di 270 m e di 600 m, al suo centro è stata sistemata la stazione meteorologica.

Il campo è circondato da piccoli appezzamenti irrigui, non presenta ostacoli aerodinamici, ovvero elementi del paesaggio che possano influenzare la turbolenza atmosferica in prossimità dei bordi ed è irrigato con un sistema a pivot centrale (figura 7).



Figura 7. Sistema di Irrigazione Pivot-Centrale

La giacitura è pianeggiante e presenta una pendenza del 2% verso sud. L'attività principale dell'azienda è la produzione di latte e formaggi e, per questo, la destinazione delle specie coltivate risulta essere esclusivamente foraggera per consumo diretto, insilamento e fienagione (l'azienda conta circa 400 capi di bufale). Si tratta quindi di un sistema semi-chiuso, in quanto quello che si raccoglie viene utilizzato come mangime per gli animali, i cui prodotti vengono poi rivenduti a terzi.

Occasionalmente, parte delle superfici, in autunno-inverno, sono date in affitto a proprietari di aziende orticole per la coltivazione di verdure a ciclo breve tipo cavolfiore, finocchio ecc.

Le concimazioni effettuate dall'azienda consistono in concimi minerali a lento rilascio (N, P₂O₅ e K₂O) e ammendamento mediante l'uso di letame prodotto dalle deiezioni delle bufale dell'azienda che vengono raccolte in una vasca, dove il letame, prima di essere sparso in campo, viene appositamente stabilizzato.

Nei campi prima di ogni semina viene effettuata come lavorazione del terreno un'aratura ad una profondità di 0.5 m. Solo in alcuni casi, viene effettuata una fresatura superficiale.

Il suolo ha una origine alluvionale, trovandosi in un'area di esondazione ed è tipicamente eterogeneo. Nella parcella sperimentale sono stati, infatti, individuati due differenti tipologie: a Nord-Est una tessitura argillosa, e ad Sud-Ovest una franco-sabbiosa. Presenta una buona dotazione di sostanza organica pari al 3.2%, un pH tendenzialmente alcalino (tabella 1).

PROFILO	SABBIA	LIMO	ARGILLA	CLASSIFICAZIONE	pH	S.O.
	%	%	%	USDA		%
EST	29.8	22.1	48.1	Argilloso	7.5	3.2
OVEST	75.1	12.5	15.0	Franco-Sabbioso		

Tabella 1. Caratteristiche chimiche-fisiche lungo il profilo Est-Ovest nel sito sperimentale di Borgo Cioffi.

Il clima del sito sperimentale si presenta tipicamente mediterraneo, con estati calde ed asciutte ed inverni piovosi con temperature che raramente scendono sotto lo zero.

Nelle due stagioni di monitoraggio sono state osservate le caratteristiche tipiche dell'ambiente mediterraneo estivo (figura 8)

I valori delle temperature registrati durante i periodi di prova in media sono stati sempre superiori a 15 °C valori massimi in un *range* di temperature tra 25°C e 31°C.

Nel primo anno sono stati registrati in media circa 116 mm di pioggia, e sono state somministrate 273mm di acqua tramite le irrigazioni. Nel secondo anno sono state registrate precipitazioni molto più basse, circa 76mm, e sono state somministrati circa 400mm di irrigua.

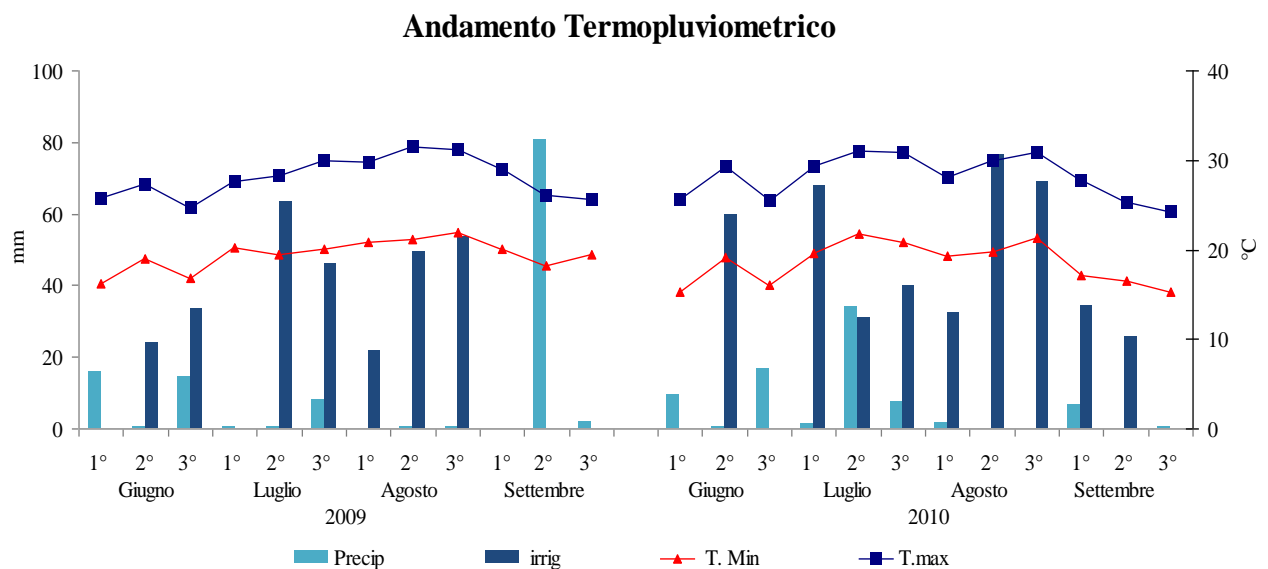


Figura 8. Andamento termo-pluviometrico delle due stagioni di crescita del mais 2009-2010

3.1.2. IL CALCOLO DEL BILANCIO IDRICO

Il calcolo del bilancio idrico è stato effettuato tramite la formula:

$$(\text{Piogge} + \text{irrigazione}) - \text{ET}_0$$

ET₀ è stato calcolato utilizzando la formula di Hargreaves (Hargreaves *et al.*, 1982):

$$\text{ET}_0 = C * \text{Ra} * (\text{T}_{\text{med}} + 17.8) * \sqrt{\text{TD}}$$

C= costante empirica pari a 0.0023

Ra= Radiazione extraterrestre giornaliera

T_{med}= temperatura media giornaliera

TD = differenza tra temperatura massima e minima nel periodo

3.1.3. LE ATTIVITÀ DI MONITORAGGIO

L'attività di monitoraggio del lavoro di dottorato ha avuto inizio nel 2009 ed è stata condotta su due anni di una cultura di *Zea mays* L. (2009 e 2010).

Semina	1° concimazione	2° concimazione	Raccolta
	12-13 giugno	10 luglio	
12-13 giugno 2009	ENTEC 25 68 kg N ha ⁻¹	ENTEC 46 190 kg N ha ⁻¹	8-9 sett. 2009
	18-19 giugno	20 luglio	
18-19 giugno 2010	ENTEC 25 65 kg N ha ⁻¹	ENTEC 46 187 kg N ha ⁻¹	21-22 sett. 2010

Tabella 2. Attività di gestione dell'azienda per il periodo 2009-2010

Lungo la direzione principale del vento è stato tracciato un transetto sperimentale, in cui sono state posizionate 8 camere (figura 9): 4 camere nel suolo argilloso (A) e 4 nel suolo franco-sabbioso (F-S).

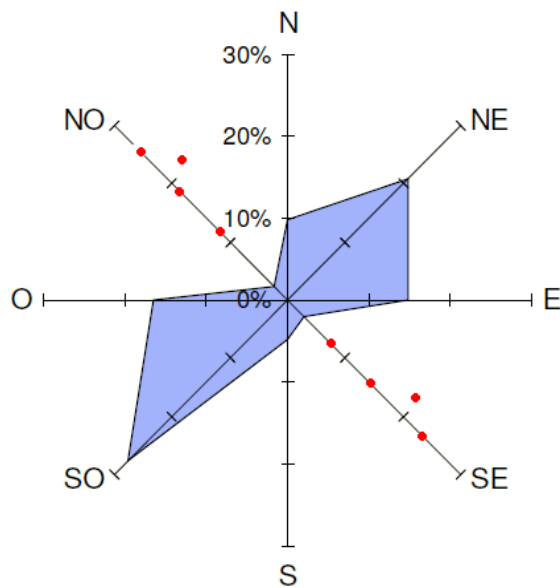


Figura 9. Direzioni del vento nel sito di Borgo Cioffi, punti rossi indicano la disposizione delle camere.

Le camere utilizzate sono manuali e statiche e consentono di prelevare l'aria che si accumula all'interno per determinare lo scambio suolo-atmosfera dei gas traccia di nostro interesse.

Esse sono fatte in materiale PVC, con un diametro di circa 20 cm, un'altezza di circa 15 cm ed un volume di circa 4.7 L (figura 10).



Figura 10. Camere manuali statiche in PVC e il metodo di campionamento dell'area

La scelta di camere di piccole dimensioni ha il vantaggio di poter far apprezzare in tempi brevi la concentrazione del gas.

Le camere in PVC sono state inserite nel terreno a circa 5-7 cm di profondità si è proceduto col campionamento avvenuto in 4 tempi differenti $t=0$ (concentrazione atmosferica), $t=1$, $t=2$, $t=3$, ogni 10 minuti circa in modo da poter valutare la variazione della concentrazione di N_2O e di CH_4 nel tempo considerato.

3.1.4. ANALISI DEI CAMPIONI DI AREA

I campioni di aria prelevati sono stati conservati all'interno di vials di vetro, in seguito si è proceduto, in laboratorio, ad analizzarli mediante l'impiego di un gascromatografo (GC 8000, Fison Instruments) che consente di determinare la concentrazione dei gas di interesse grazie alla presenza di due tipi di detector: FID ed ECD.

Il FID (Flam Ionization Detector) consente la determinazione della concentrazione del metano.

L'ECD (Electron Capture Detector) consente la determinazione della concentrazione del protossido di azoto.

Il sistema è stato modificato da Loftfield et al. (1997), per consentire contemporaneamente l'analisi di entrambi i gas su 1 campione di aria di 6 ml. Nel rivelatore a ionizzazione di fiamma (FID) il gas di trasporto in uscita dalla colonna viene mescolato a idrogeno, aria e combusto. Nella fiamma, quando una sostanza viene eluita, a motivo di un elettrodo posto all'uscita del gas, i vapori combusti vengono caricati elettricamente producendo ioni che vengono raccolti sulla superficie del detector producendo una corrente elettrica che, amplificata, ne rappresenta il segnale. La differenza tra il gas puro e quello contenente la sostanza separata rappresenta un picco. In un rivelatore a cattura di elettroni (ECD), un radioisotopo, in genere ^{63}Ni viene utilizzato come sorgente (raggi beta).

Composti contenenti atomi elettronegativi, fortemente assorbenti il flusso di elettroni tra la sorgente ed un rivelatore di elettroni, possono essere visualizzati mentre eluiscono dalla colonna gascromatografica.

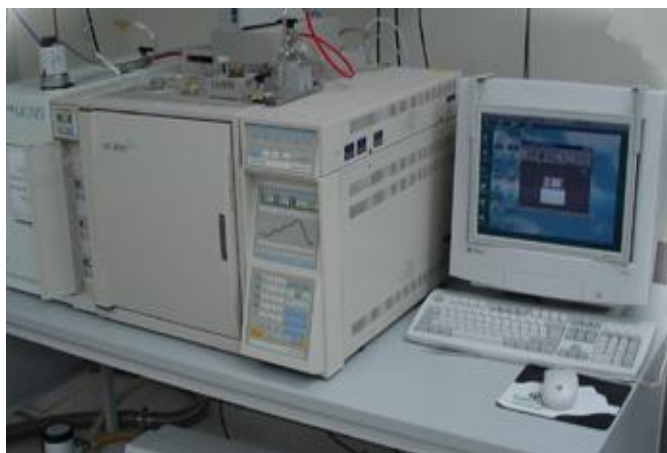


Figura 11. Gas cromatografo 8000, Fison Instruments

3.1.5. LA DETERMINAZIONE DEI PARAMETRI CHIMICO-FISICI DEL SUOLO

3.1.5.1 L'UMIDITÀ DEL SUOLO

Vicino ad ogni camera sono state collocate 3 sonde TDR (riflettometria nel dominio del tempo), in modo da poter avere una stima puntuale dell'umidità del suolo.

Le misure con tecnica TDR sono state effettuate mediante un apparecchio TDR Tektronix 1502C, le sonde utilizzate sono costituite da tre aste in acciaio INOX di 8 mm di diametro e lunghezza di 150 mm, montate su distanziatori in nylon con interasse 8 cm in modo da rispettare il rapporto 1/10 consigliato da Knight, (1992). Tutti i cablaggi sono stati realizzati con cavo coassiale RG58 con impedenza 50 Ω , mentre per le connessioni al Tektronix 1502C sono stati impiegati connettori BNC in ottone nichelato.

Il calcolo della percentuale di spazio libero all'interno del suolo occupato dall'acqua (WFPS) è stato effettuato secondo la seguente relazione:

$$WFPS = \frac{VWC}{1 - \left(\frac{BD}{2.65} \right)}$$

2.65= densità media delle particelle di suolo ricavata dai dati riportati in bibliografia (Rowell D. L., 1993; S.Castaldi, 1997, Forte A., 2005);

BD= valore di bulk density;

VWC=Volumetric water content.

3.1.5.2. TEMPERATURA DEL SUOLO

La temperatura del suolo è stata misurata per ogni camera utilizzando una sonda dalla temperatura di circa 20 cm connessa ad un trasmettitore per rilevare la temperatura momentanea del suolo.

3.1.5.3. DETERMINAZIONE DEL CONTENUTO DI NITRATI ED AMMONIO NEL SUOLO

Sono stati prelevati campioni di suolo a due differenti profondità (0-20 e 20-40) vicino ad ogni camera presente per il transetto sperimentale. Sui campioni di suolo sono state effettuate le determinazioni del contenuto di nitrati ed ammonio.

Per quanto riguarda la determinazione dell'azoto nitrico e nitroso è stata utilizzata la metodica della cromatografia ionica, per quella dell'azoto ammoniacale è stata utilizzata la metodica della colorimetria a flusso continuo (reazione di Berthelot).

Entrambe le metodiche impiegate sono riportate sulla Gazzetta Ufficiale N 248211099 D.M del 13/09/1999 e corrispondono rispettivamente ai metodi: XIV 9, XIV 11.

3.2. II PROVA

3.2.1. AREA DI STUDIO

Il monitoraggio è stato condotto presso l'azienda EURECO Centro di ricerca e servizi nei settori Agroalimentare, Ambientale ed Energetico. Località "La Fagianeria" Piana di Monte Verna, 81015 Caserta (figura 12).



Figura 12. Immagine satellitare del campo sperimentale Eureco

Le attività di monitoraggio dei flussi ha avuto inizio nel 2011 in collaborazione con il CNR ISAFOM di Ercolano.

Il suolo dell'azienda ha una tessitura Franco-Sabbiosa. Il pH è neutro e con una buona dotazione di sostanza organica e azoto totale (tabella 3).

SABBIA	LIMO	ARGILLA	CLASSIFICAZIONE
%	%	%	USDA
58.5	26	15.5	Franco-Sabbioso

pH	Tot N	CaCO ₃	S.O.
	g/kg	%	%
7.3	1.81	2	2.1

Tabella 3. Caratteristiche chimiche-fisiche del campo sperimentale

La forma del campo sperimentale è approssimativamente rettangolare diviso in nove parcelle di 15 m²

Il piano sperimentale a randomizzazione completa, prevedeva il confronto tra tre tipi di concimazioni per tre ripetizioni su una cultivar di parata.

Le concimazioni utilizzate sono state:

NO: Non concimato

MIN: concimato con concime minerale

Entec: concimato con Entec 26%



L'andamento temopluviometrico è riportato nella figura 14.

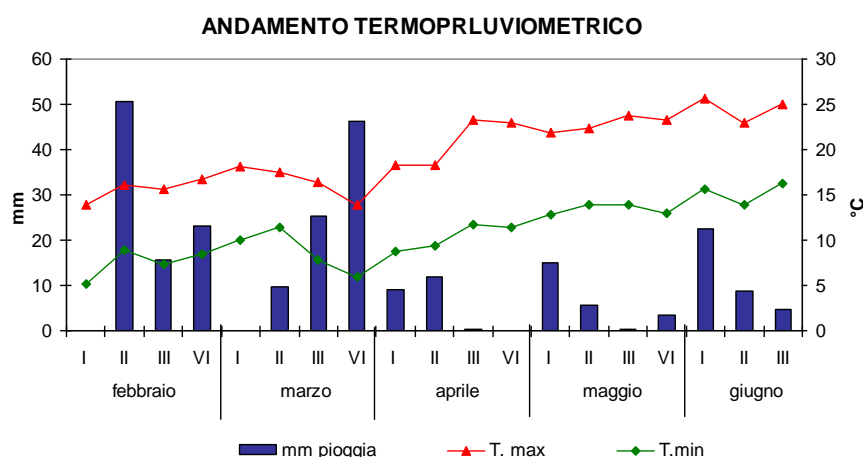


Figura 14. Andamento termo-pluviometrico durante la stagione colturale della patata

In particolare, è stato osservato che nel periodo da febbraio a giugno le temperature massime sono variate da 14 a 25°C, le temperature minime hanno fatto registrare valori da 5 a 16°C.

Per quanto riguarda le piogge tra il mese di febbraio e il mese di giugno sono piovuti circa 265mm. Nel mese di maggio in cui si registrano le minori precipitazioni sono state eseguite tre irrigazioni di soccorso (6-20-27/5/2011) di circa 750mm di acqua.

3.2.2. LE ATTIVITÀ DI MONITORAGGIO

Le camere utilizzate sono manuali e statiche, in materiale PVC, con un diametro di circa 50 cm e un'altezza di circa 20 cm e un volume di circa 40 L

3.2.3. ANALISI DEI CAMPIONI DI AREA

I campioni di aria sono stati analizzati mediante l'impiego di un gascromatografo Model 8610C Gas Chromatograph della SRI INSTRUMENTS che consente di determinare la concentrazione del gas N₂O grazie alla presenza del detector ECD.

3.2.4. LA DETERMINAZIONE DEI PARAMETRI CHIMICO-FISICI DEL SUOLO

Sono stati effettuati campionamenti di suolo a 0-20 cm nei giorni in cui è stato effettuato il campionamento di aria dalle camere.

Sui campioni di suolo è stata analizzata la concentrazione di azoto nitrico ed ammoniacale, mediante uno spettrofotometro (dati non riportati).

L'umidità e la temperatura del suolo sono state misurate come descritto nel paragrafo 3.1.4.

3.3. CALCOLO DEI FLUSSI

3.3.1. IL CALCOLO DEI FLUSSI DI N₂O E DI CH₄

Il flusso di N₂O e del CH₄ è stato calcolato mediante la seguente equazione:

$$f = k \frac{A}{S}$$

Dove:

f = flusso di N₂O ($\mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) o di CH₄ ($\mu\text{g CH}_4\text{-C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$);

A = pendenza della retta ottenuta dalle concentrazioni di N₂O e di CH₄ nel tempo;

S = l'area della superficie di suolo situate all'interno della camera;

k = il coefficiente ottenuto per i due gas di interesse utilizzato per la conversione della misura.

3.3.2. IL CALCOLO DEI FLUSSI CUMULATIVI

Il calcolo dei flussi cumulativi osservati durante le tre stagioni colturali è stato effettuato considerando le medie dei flussi ottenute per ogni singolo giorno di campionamento ed effettuando un'interpolazione lineare tra essi mediante la seguente equazione:

$$fc = \sum \frac{(f1 + f2) \cdot (t2 - t1)}{2} \cdot 24$$

Dove:

fc = flusso cumulativo di N₂O (N kg ha^{-1}) e di CH₄ (C kg ha^{-1});

f = flusso di N₂O ($\mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) e di CH₄ ($\mu\text{g CH}_4\text{-C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$);

t = l periodo in cui sono stati raccolti i campioni.

3.3.3. IL CALCOLO DEL FATTORE DI EMISSIONE

Il Fattore di Emissione è stato calcolato utilizzando la seguente equazione:

$$EF1 = \frac{fc}{N}$$

Dove

EF1 = Fattore di Emissione di N₂O e di CH₄;

fc = flusso cumulative di N₂O e di CH₄;

N = l'input di N durante la stagione di crescita

3.3.4. IL GLOBAL WARMING POTENTIAL (GWP)

Il potenziale di riscaldamento globale consente di valutare i possibili effetti di riscaldamento del sistema superficie-troposfera in base alle emissioni di ciascun gas serra. È una scala relativa basata sulla capacità di ogni gas di assorbire calore rispetto a quella dell'anidride carbonica. Il GWP è calcolato in uno specifico intervallo di tempo ed il valore di questo deve essere precisato ogni volta che un GWP è citato. Può essere usato per definire l'effetto che i gas serra avranno in cento anni. Per la maggior parte dei gas serra, il GWP diminuisce mentre l'orizzonte di tempo aumenta perché questi gas sono rimossi dall'atmosfera attraverso meccanismi naturali di rimozione. Il metano è un gas che contribuisce significativamente all'effetto serra ed ha un GWP di 21. Ciò significa che il metano assorbe calore circa 21 volte più dell'anidride carbonica per unità di peso.

Il GWP del protossido d'azoto è di 310, quindi il suo potere calore-assorbente è molto maggiore rispetto all'anidride carbonica. Il GWP dipende dai seguenti fattori:

- l'assorbimento di radiazione infrarossa di una data specie.

- la posizione spettrale delle relative lunghezze d'onda assorbenti.
- il tempo di permanenza di un gas nell'atmosfera.

GAS	GWP
CO ₂	1
N ₂ O	21
CH ₄	310
<i>IPCC, 2001</i>	

Tabella 5. Global Warming Potential dei gas CO₂, N₂O e CH₄

Pertanto un elevato GWP è correlato con un grande assorbimento dell'infrarosso e un lungo tempo di resistenza della specie gassosa nell'atmosfera. Un gas ha un maggior effetto se assorbe in un "finestra" delle lunghezze d'onda dove l'atmosfera è ragionevolmente trasparente. La dipendenza del GWP in funzione della lunghezza d'onda è stata trovata empiricamente ed è stata pubblicata ed espressa graficamente. Poiché il GWP di un gas serra dipende direttamente dal relativo spettro infrarosso, l'uso della spettroscopia infrarossa per studiare i gas serra è di fondamentale importanza per capire l'effetto delle attività umane sul cambiamento climatico globale.

Il GWP è calcolato sulla base del potenziale di riscaldamento in 100 anni di un chilogrammo di un gas rispetto ad un chilogrammo di CO₂. E' stato quindi determinato il valore di GWP per l'N₂O e d il CH₄ durante i tre anni di monitoraggio secondo la seguente equazione:

$$CO_2 \text{ eqi} = E * GWP$$

Dove:

E= quantità dell'emissione espressa in kg

GWP= fattore del potenziale di riscaldamento globale dell'emissione su di un orizzonte temporale prefissato.

3.4. LA STATISTICA

Per i confronti statistici dei dati di flusso delle due prove sono stati utilizzati gli errori standard riportati nei grafici. Inoltre sono state effettuate regressioni lineari e multiple per valutare la relazione tra i principali parametri chimici e fisici del suolo con i flussi.

Sui dati di produzione è stata effettuata l'analisi della varianza.

Le analisi statistiche sono state applicate mediante l'uso del software SigmaStat 3.1 (Systat Software 2004).

4. RISULTATI E DISCUSSIONE

4.1 I PROVA

4.1.1 BILANCIO IDRICO 2009-2010

Per poter meglio comprendere l'effetto dell'umidità del suolo sugli andamenti delle emissioni di gas serra dal suolo, è stato effettuato il calcolo del bilancio idrico tramite la formula descritta nel paragrafo 3.1.2

Nel 2009 è stata osservata una forte carenza idrica (296 mm) durante tutto il ciclo colturale, dovuto all'impossibilità di effettuare regolarmente l'irrigazione a causa di problemi tecnici riscontrati in azienda (figura 15a).

Nel 2010 non sono stati riscontrati deficit idrici alla coltura, anche se le precipitazioni sono state molto più basse, in quanto l'irrigazione è stata regolare ed ha compensato il deficit idrico (figura 15b).

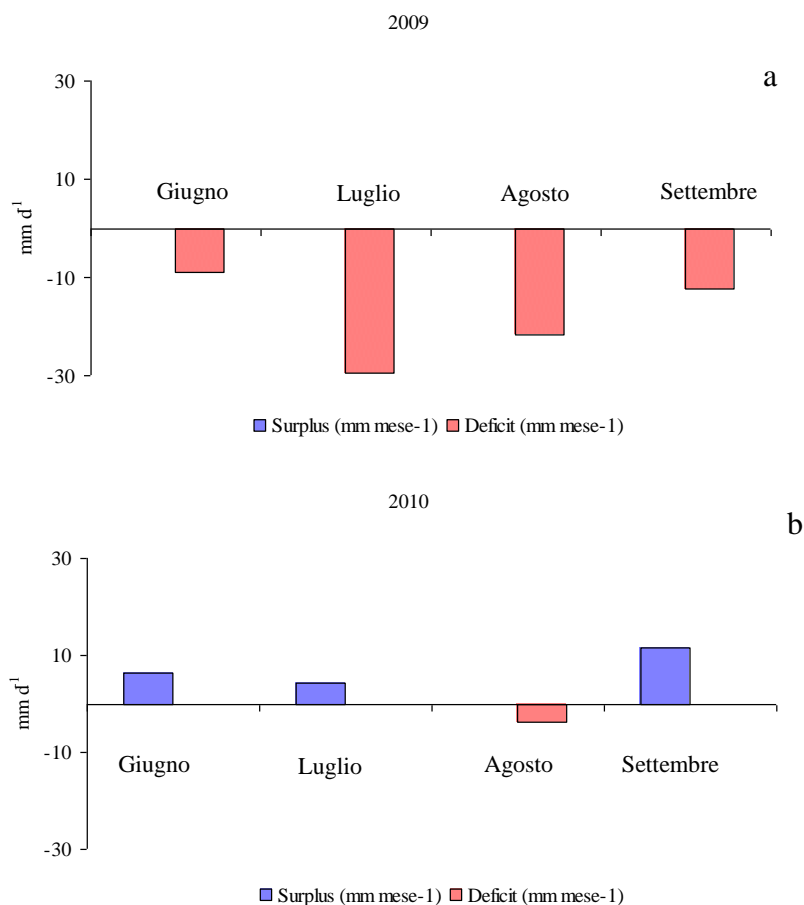


Figura 15. Bilancio idrico 2009(a)-2010(b)

4.1.2. FLUSSI DI PROTOSSIDO DI AZOTO NEL 2009-2010

La figura 16 descrive i flussi di protossido di azoto, il contenuto di nitrati, la somma degli apporti idrici (precipitazioni irrigazione nei quattro giorni precedenti al campionamento) ed il WFPS misurato nel giorno del campionamento nelle due tipologie di suolo a confronto (Franco-Sabbioso: F-S ; Argilloso: A) per l'anno 2009.

Sia nel suolo Franco-Sabbioso che nel suolo Argilloso, la dinamica dei flussi è risultata, come era da aspettarsi, influenzata dalla disponibilità di nitrati nel suolo. Dopo la prima concimazione, effettuata alla semina, non sono state osservate elevate emissioni di protossido di azoto. Questo fenomeno probabilmente è da attribuirsi alle bassa umidità del suolo e di conseguenza ai valori bassi di WFPS riscontrati nella prima fase del ciclo colturale. Il picco di protossido più alto, in entrambe le tipologie di suolo, è stato riscontrato dopo circa quindici giorni dalla concimazione di copertura ed in corrispondenza di valori elevati di WFPS. In questo caso il ritardo dei flussi di protossido è da attribuirsi probabilmente alla presenza nel concime (ENTEC) di un inibitore della nitrificazione, il 3,5-DMPP.

Tra il flusso di protossido di azoto e la concentrazione di nitrati nel suolo (figura 18) è stata evidenziata una relazione funzionale in entrambi i suoli a confronto, (F-S $P \leq 0.05$; A $P \leq 0.001$). La pendenza della retta non ha mostrato differenze tra i due suoli presi in esame.

Anche nel 2010 (figura 17), è stata osservata una forte relazione tra i flussi di protossido, il contenuto dei nitrati, l'umidità del suolo nei quattro giorni prima del campionamento ed il WFPS nelle due tipologie di suolo, questi fattori. Come nel 2009, anche nel 2010 si è osservato un incremento delle emissioni in seguito all'aumento del contenuto dei nitrati nel suolo ed un riduzione in seguito alla ridotta disponibilità di essi.

Differentemente da quanto riscontrato nel 2009, nel 2010, in cui non si sono verificati stress idrici, sono stati rilevati due picchi di protossido circa quindici giorni dopo i due interventi di concimazione effettuati. Il ritardo

dei picchi di protossido è dovuto, come già detto, all'inibitore presente nel concime utilizzato dall'azienda.

Anche nel secondo anno la correlazione (figura 19) tra i flussi di protossido e i nitrati nel suolo è risultata significativa per entrambi i suoli ($P \leq 0.001$). Confrontando le due relazioni si sono riscontrate differenze tra le pendenze dei due suoli presi in esame (F.R. $b=2.16$ e A. $b=5.18$).

Per mettere ancor più in evidenza, le differenze tra le due intere stagioni di crescita, nelle figure 20 e 21 sono riportati gli andamenti dei flussi di protossido di azoto prelevati nei due suoli presi in esame (F-S e A).

Le emissioni di protossido di azoto misurate nel 2009 sono circa dieci volte inferiori di quelle registrate nel 2010. La causa principale di tale fenomeno può essere attribuita all'apporto idrico meno abbondante nel 2009 rispetto al 2010 in cui le condizioni di umidità del suolo sono state nei *range* ottimali per l'attività dei microrganismi (WFPS medio 2009=35%; WFPS medio 2010= 45%)

Nelle figure 22 e 23 sono riportate le regressioni lineari multiple eseguita tra le due variabili, temperatura del suolo e WFPS con i flussi di protossido sia per il suolo Franco-Sabbioso che per l'Argilloso nelle due annate di monitoraggio 2009 e 2010.

Nel 2009 nel suolo A (figura 22) entrambe le due variabili hanno mostrato una forte correlazione con i flussi di protossido, infatti, all'aumentare sia della variabile temperatura sia della variabile WFPS si ha un aumento del flusso di protossido di azoto dal suolo. Invece questa relazione non è stata riscontrata nel suolo F-S, dove è risultata significativa solo la variabile temperatura del suolo. Tale differenza tra i due campi a confronto probabilmente, come detto in precedenza, è dovuta al fatto che anche in condizioni di stress idrico il campo argilloso mostra maggiore capacità di ritenzione idrica o rispetto a quello con tessitura sabbiosa.

Nel 2010, al contrario, (figura 23) è stata osservata una correlazione solamente tra l'andamento dei flussi di protossido e l'andamento della

percentuale di WFPS sia nel suolo franco-sabbioso che nell'argilloso. Tale correlazione è probabilmente dovuta alla mancanza di stress idrico riscontrato durante tutto il ciclo colturale.

Dal confronto dei due anni è risultato evidente che i diversi regimi idrici hanno causato differenti flussi di protossido. Tale fenomeno è stato osservato anche da Vallejo *et al.* (2004); e Dobbiè *et al.* (1999) che hanno riportato correlazioni positive tra i flussi e la quantità di pioggia e irrigazione dopo l'applicazione del concime.

In uno studio di Parton *et al.* (1996), in cui sono state messe a confronto le emissioni di protossido e varie percentuali di WFPS, è stato osservato che in un *range* di WFPS tra 30 e 60% il processo predominante per la produzione di N₂O è stato la nitrificazione perché né la presenza di nitrati, né la presenza di O₂ erano limitanti per il processo.

Raser *et al.* (2005), e Sexstone *et al.* (1988) hanno osservato che a percentuali di WFPS $\geq 70\%$ si ha produzione di protossido di azoto tramite la denitrificazione, in quanto nel terreno si creano microcisti anaerobiche. Il modello di Davidson (cfr. paragrafo 5.2) mette in evidenza come la maggiore produzione di protossido di azoto dal suolo avviene alla percentuale di WFPS del 60% sia per la denitrificazione sia per la nitrificazione.

Da questi dati possiamo dedurre che probabilmente il fenomeno che ha principalmente contribuito alle emissioni di protossido sia stato la nitrificazione. Per questo motivo i valori registrati nel nostro studio (WFPS di 30% e 45% rispettivamente nel 2009 e nel 2010) rispetto ai valori registrati negli altri areali europei (Spagna, Inghilterra, Francia) sono molto più bassi.

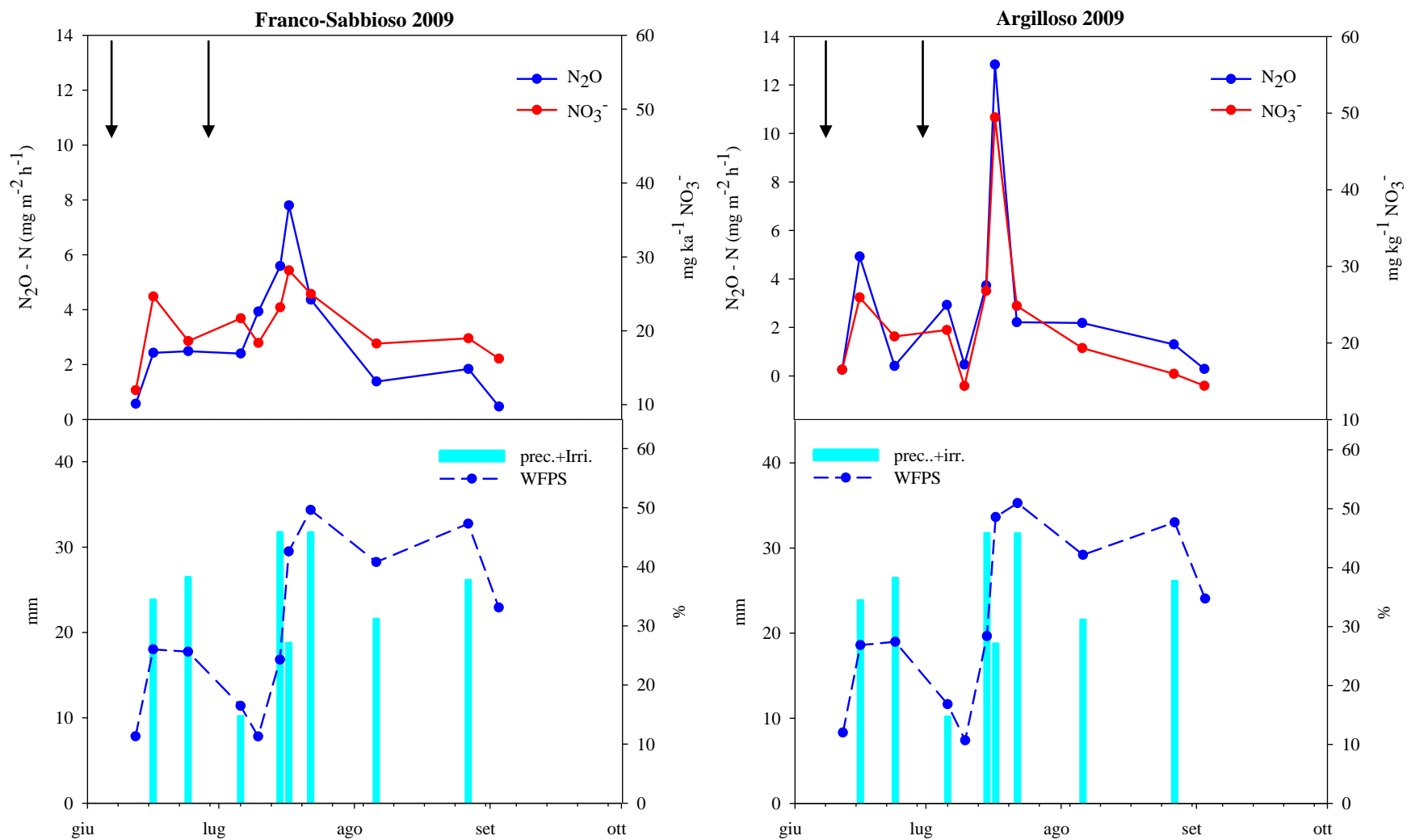


Figura 16. Flussi di protossido di azoto, il contenuto di nitrati, la somma delle precipitazione ed delle irrigazioni (nei quattro giorni precedenti al campionamento) ed il WFPS misurato nel giorno del campionamento nell'anno 2009 per le due tessiture (Franco-Sabbioso; Argilloso). Le frecce indicano gli interventi di concimazione.

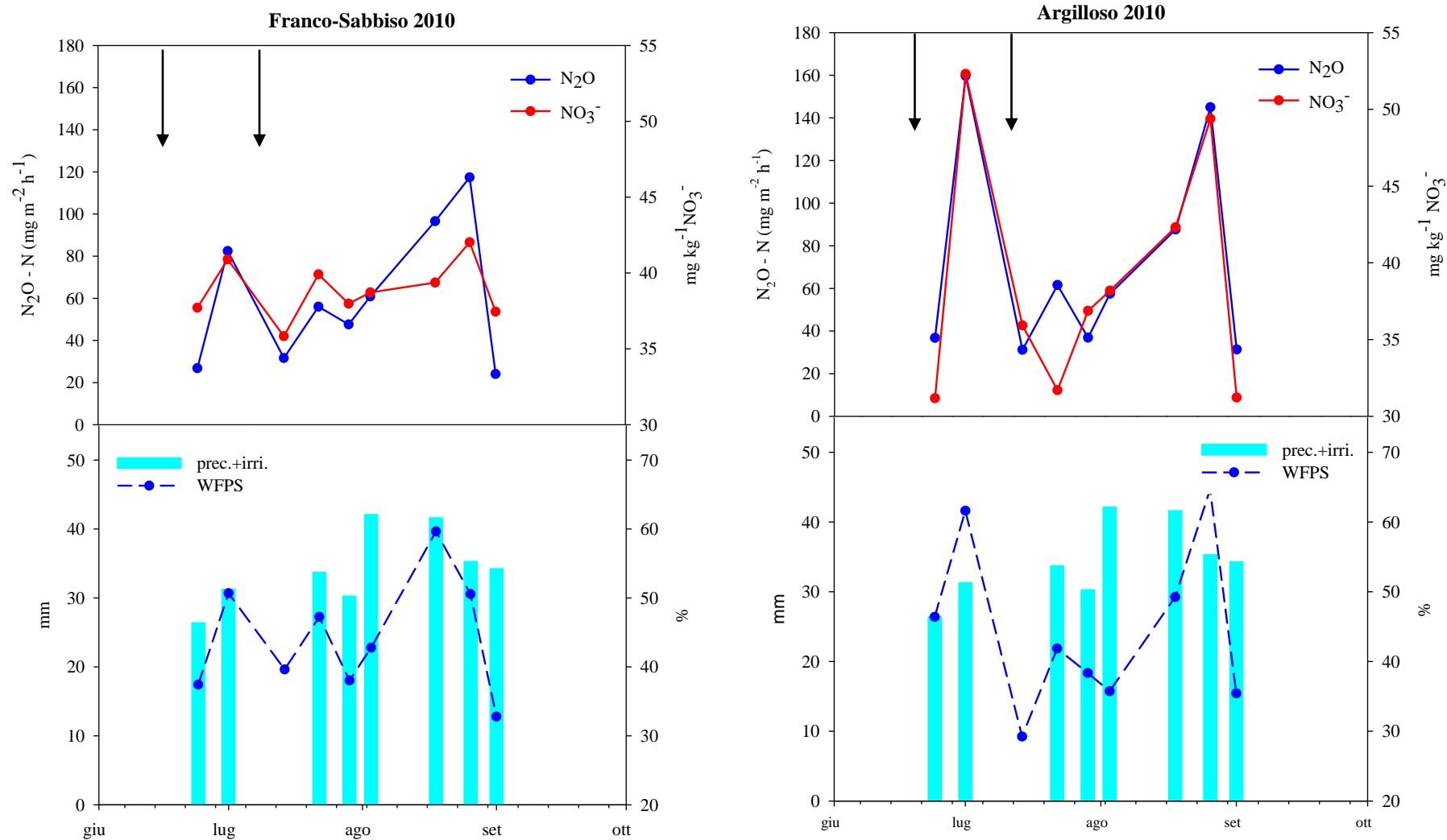


Figura 17. Flussi di protossido di azoto, il contenuto di nitrati, la somma delle precipitazione ed delle irrigazioni (nei quattro giorni precedenti al campionamento) ed il WFPS misurato nel giorno del campionamento, nell'anno 2010 per le due tessiture (Franco-Sabbiso; Argilloso). Le frecce indicano gli interventi di concimazione.

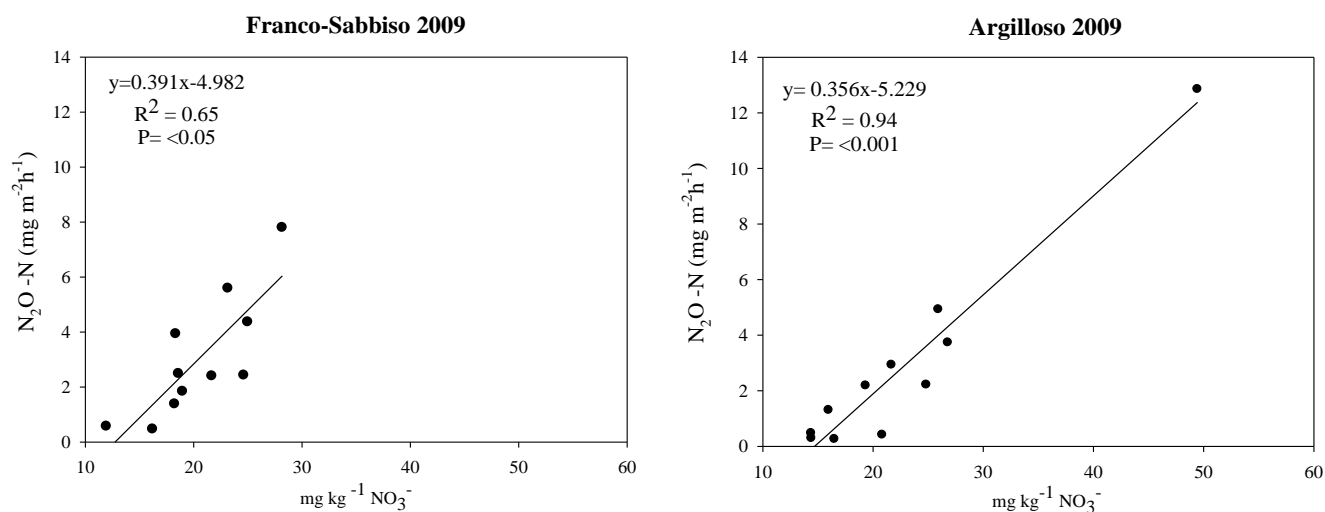


Figura 18. Modello di regressione dei nitrati al suolo vs flussi N_2O durante la stagione culturale del mais 2009 nelle due tipologie di suolo (Franco-Sabbioso; Argilloso)

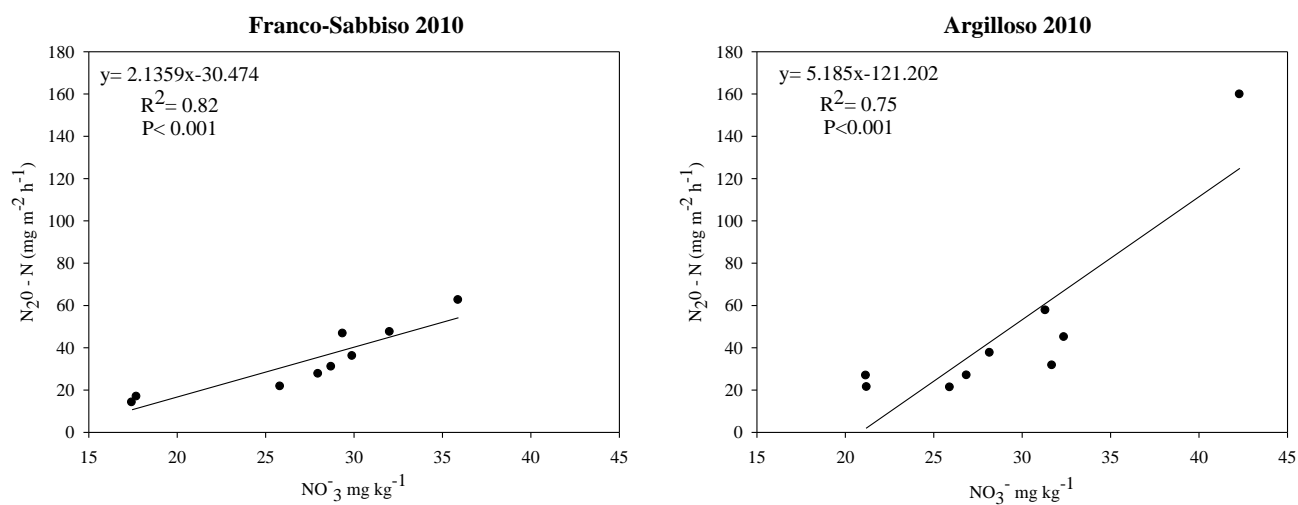


Figura 19. Modello di regressione dei nitrati al suolo vs flussi N_2O durante la stagione culturale del mais 2010 nelle due tipologie di suolo (Franco-Sabbioso; Argilloso)

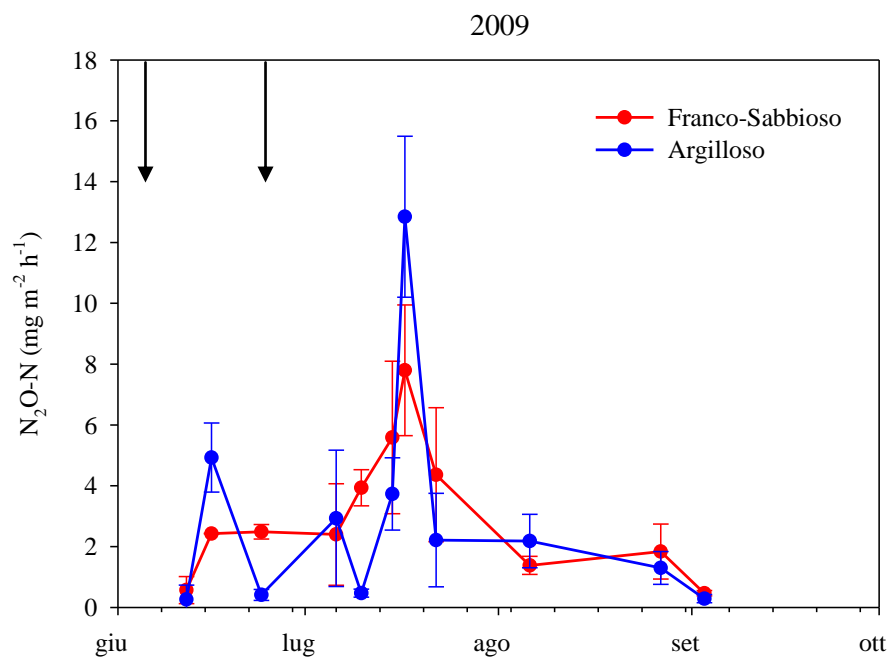


Figura 20. Flussi di N_2O nelle due tipologie di suolo (Franco-Sabbioso;Argilloso) nel 2009. Le frecce indicano gli interventi di concimazione. Le barre di errore rappresentano gli errori standard.

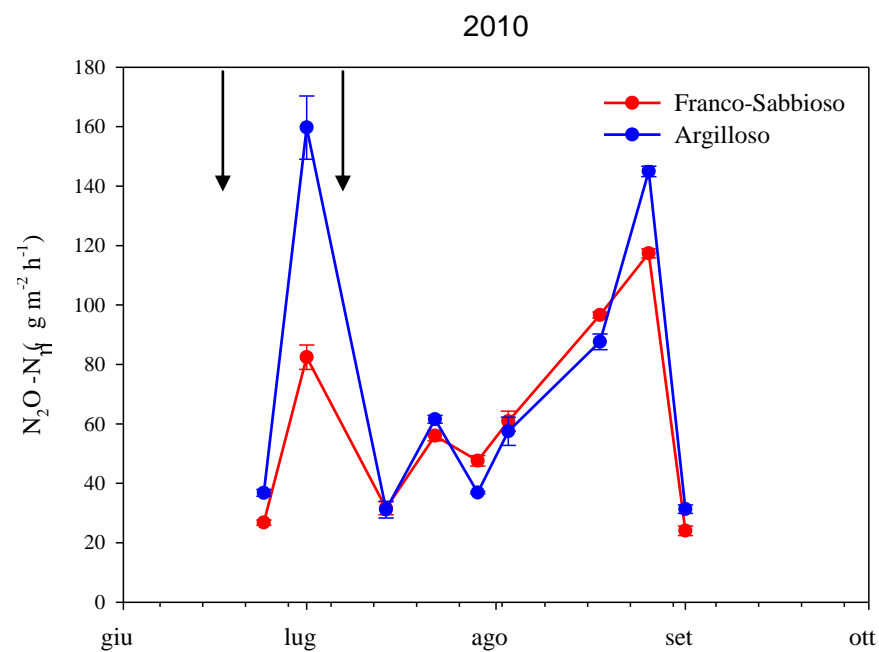
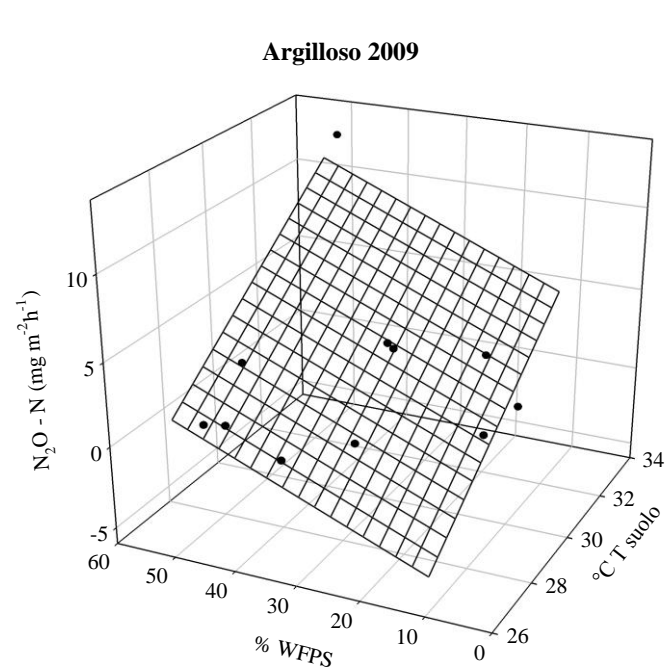


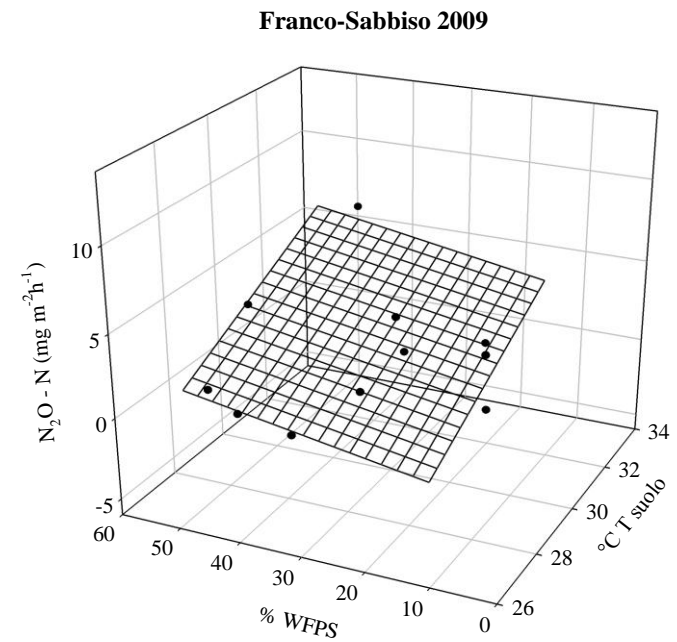
Figura 21. Flussi di N_2O nelle due tipologie di suolo (Franco-Sabbioso;Argilloso) nel 2010. Le frecce indicano gli interventi di concimazione. Le barre di errore rappresentano gli errori standard.



$$\text{N}-\text{N}_2\text{O} = -47.941 + (1.446 * \text{T.suolo}) + (0.515 * \text{WFPS})$$

$$R^2 = 0.77$$

T. suolo $P = < 0.05$
WFPS $P = < 0.05$

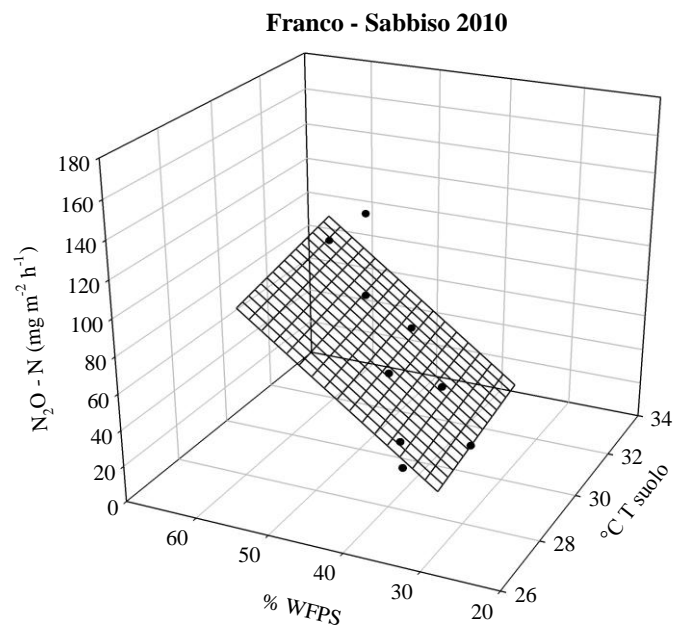


$$\text{N}-\text{N}_2\text{O} = -25.630 + (0.938 * \text{T.suolo}) + (0.0661 * \text{WFPS})$$

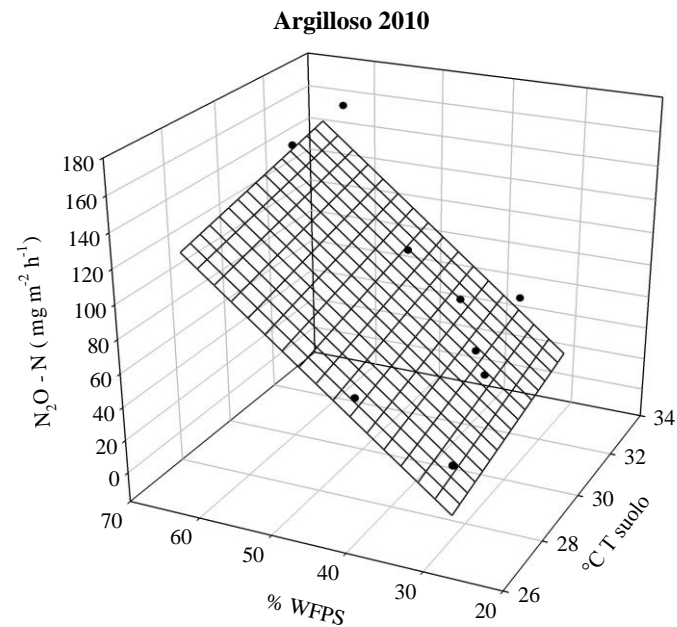
$$R^2 = 0.58$$

T suolo $P = < 0.05$
WFPS = n.s.

Figura 22. Modello di regressione lineare multipla della temperatura, percentuale WFPS vs flussi N_2O durante la stagione colturale del mais 2009 nelle due tipologie di suolo (Franco-Sabbioso; Argilloso)



$\text{N}-\text{N}_2\text{O} = -179.226 + (3.672 * \text{T.suolo}) + (2.898 * \text{WFPS})$
 $R^2 = 0.83$
 WFPS $P < 0.05$
 T. Suolo n.s.



$\text{N}-\text{N}_2\text{O} = -214.845 + (4.287 * \text{T.suolo}) + (3.433 * \text{WFPS})$
 $R^2 = 0.86$
 WFPS $P < 0.05$
 T. Suolo n.s.

Figura 23. Modello di regressione lineare multipla della temperatura, percentuale WFPS vs flussi N_2O durante la stagione colturale del mais 2010 nelle due tipologie di suolo (Franco-Sabbioso; Argilloso)

4.1.3. FLUSSI CUMULATI DI N₂O NEL 2009 E NEL 2010

Nelle figure 24 e 25 è rappresentato l'andamento dei flussi cumulati di N₂O durante i due cicli colturali (2009 e 2010). Dalla figura 24 si può osservare il verificarsi di un incremento di flussi di circa il 51% nella prima parte del ciclo colturale (primi quattro campionamenti). Dopo la seconda concimazione, l'incremento dei flussi di N₂O è stato del 53 % (dal quinto al nono campionamento) con una saturazione nell'ultimo punto a causa, probabilmente, di una minore attività dei microrganismi del suolo.

Nella figura 25 si evidenzia, dopo la prima concimazione, un incremento dei flussi di N₂O dal primo al quarto campionamento di circa il 72%. Dopo la seconda concimazione, anche qui nei quattro campionamenti successivi, l'incremento dei flussi è stato di circa il 62% non mostrando punti di saturazione. Tale processo è dovuto probabilmente al fatto che i parametri del suolo (temperatura e WFPS) erano nei *range* ottimali per l'attività dei microrganismi presenti nel suolo.

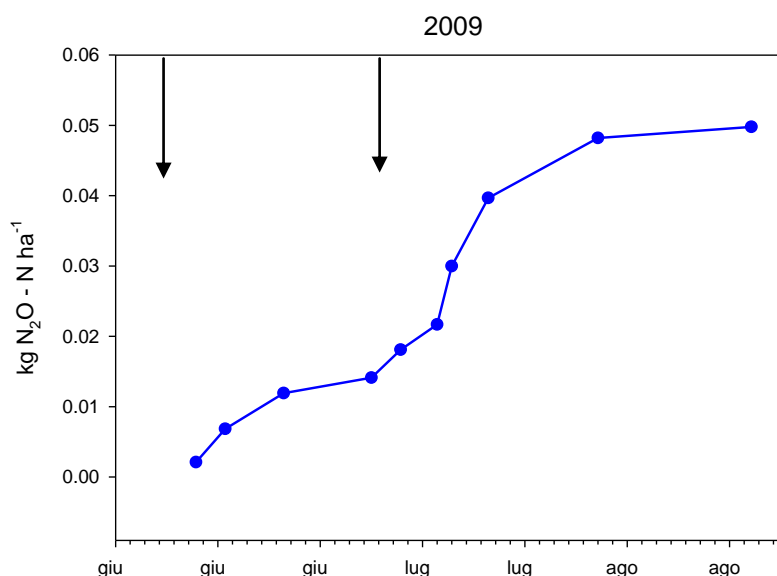


Figura 24. Curva cumulativa dei flussi di N₂O durante la coltura di mais 2009.
Le frecce indicano gli interventi di concimazione

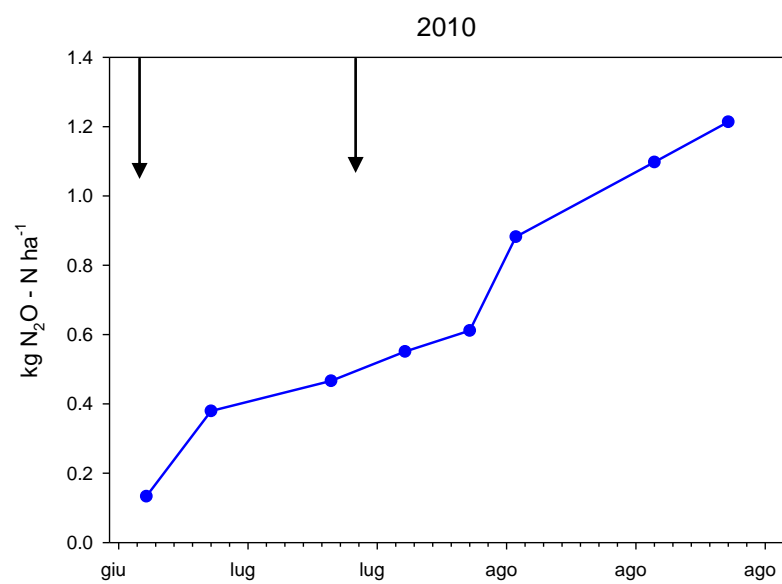


Figura 25. Curva cumulativa dei flussi di N₂O durante la coltura di mais 2010.
Le frecce indicano gli interventi di concimazione

4.1.4. FLUSSI DI METANO NEI DUE ANNI DI PROVA

Sui flussi di metano non sono state riscontrate differenze tra i due suoli, pertanto sono stati riportati i valori medi di flussi, temperatura del suolo e percentuale WFPS lungo il transetto sperimentale durante i due anni di monitoraggio (figura 26).

Dall'analisi dei dati è risultata evidente la forte capacità del suolo al consumo di metano atmosferico. Solo nei due momenti in cui è stata effettuata la concimazione e quando l'umidità del terreno è stata più alta, la capacità del terreno di assorbire il metano atmosferico è diminuita. Questa situazione si è verificata a causa delle forti condizioni di anossia che hanno limitato l'attività dei microrganismi metanotrofi, e della presenza di ammonio che potrebbe avere un'azione inibente sul consumo di metano competendo con esso per l'attività ossidativa dell'enzima metano-monossigenasi.

Per quanto riguarda la presenza di acqua nel suolo, in uno studio di Kaller & Reiners (1994) è stato riportato che esiste una relazione lineare tra l'ossidazione del metano e la percentuale di WFPS del suolo. Tale relazione è stata confermata anche nei lavori di Dobbie e Smith (1996) e Potter *et al.* (1996) in cui diversi modelli mostrano la massima ossidazione del metano in suoli ben areati e un'inibizione dell'attività microbica quando il suolo è troppo umido.

Per quanto riguarda la concentrazione nel suolo di ione ammonio e ione nitrato in uno studio di Butterbach-Bahl e Papen (2002), è riportato che le basse concentrazioni di NH_4^+ e di NO_3^- favoriscono l'ossidazione del metano e quindi che la disponibilità di N inorganico determina una riduzione dell'*uptake* di metano.

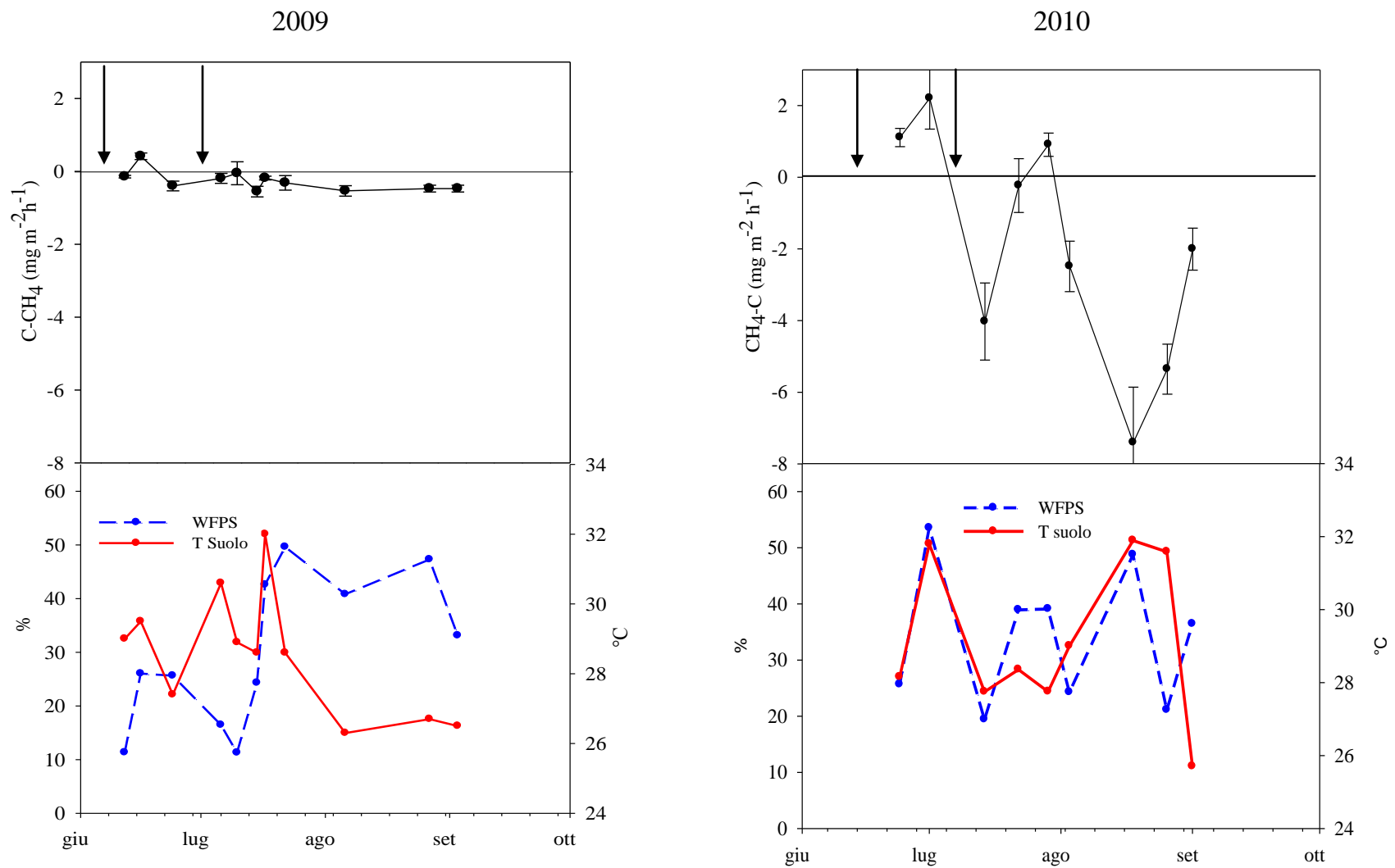


Figura 26. Medie dei flussi di CH₄ delle 8 camere, WFPS e temperatura del suolo del 2009 e del 2010. Le frecce indicano gli interventi di fertilizzazione. Le barre di errore rappresentano gli errori standard.

4.1.5. FATTORE DI EMISSIONE DELL'N₂O

Dal fattore di emissione dei due anni, anche in questo caso, si evince il ruolo fondamentale che ha avuto lo stress idrico. Infatti, nel 2009 il fattore di emissione è stato notevolmente inferiore (FE=0.019) a quello registrato nell'annata successiva (FE=0.48) in cui non sono stati riscontrati problemi di stress idrico.

Per quanto riguarda il fattore di emissione, è stato osservato che in ambiente mediterraneo i valori sono risultati molto più bassi di quelli registrati in altre zone. Infatti, i valori sono stati inferiori all'1% che è il valore di riferimento dell' *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC, 2006). Anche in uno studio condotto sempre in ambiente mediterraneo da Forte *et al.* (2006) è stato osservato un fattore di emissione inferiore all'1%, mentre Vallejo *et al.* (2004), sempre in un ambiente mediterraneo, hanno riscontrato un fattore di emissione di circa il 2%.

4.1.6. GLOBAL WARMING POTENTIAL (GWP)

Per quanto riguarda i valori di GWP (tabella 7) del protossido di azoto, nel 2009 il valore è molto basso rispetto a quello del 2010 che è in accordo con i valori riportati in bibliografia: in un lavoro di Mosier *et al.* (2007) su una coltivazione di mais alternata a soia sono stati riscontrati valori di circa 660 Kg CO₂ equivalente.

Per quanto riguarda i valori di GWP del metano possiamo osservare, come il campo sperimentale abbia mostrato la grande attitudine al consumo di CH₄ atmosferico sia nel 2009 che nel 2010, rispetto ai valori riportati da Mosier *et al.* (2007) che sono di circa -3.3 Kg CO₂ equivalente.

Anno	N ₂ O Kg CO ₂ equiv	CH ₄ Kg CO ₂ equiv
2009	24.23	-16.27
2010	590.78	-10.42

Tabella 6. GWP di protossido di azoto e di metano nei due anni 2009-2010

4.1.7. PRODUZIONE DI BIOMASSA

Nella tabella 7 sono riportati i valori di produzione di sostanza secca nei due anni di sperimentazione.

Com'era da aspettarsi, a causa del deficit idrico, nel 2009, i valori di biomassa secca sono stati significativamente inferiori a quelli del secondo anno, e non sono state riscontrate differenze statistiche tra le due tipologie di terreni. Nel 2010 oltre a valori di produzione superiori, sono state riscontrate anche valori superiori nel suolo argilloso.

Produzione S.S.	2009	2010
	t/ha	
Argilloso	19.72 c	28.70 a
Franco-Sabbioso	18.59 c	24.00 b

Tabella 7. Produzione di sostanza secca della coltura di mais nelle due annate di sperimentazione

4.2. II PROVA

4.2.1 ANDAMENTO DEI FLUSSI DI N₂O

Nel figura 27 viene riportato l'andamento dei flussi di protossido nei tre diversi trattamenti.

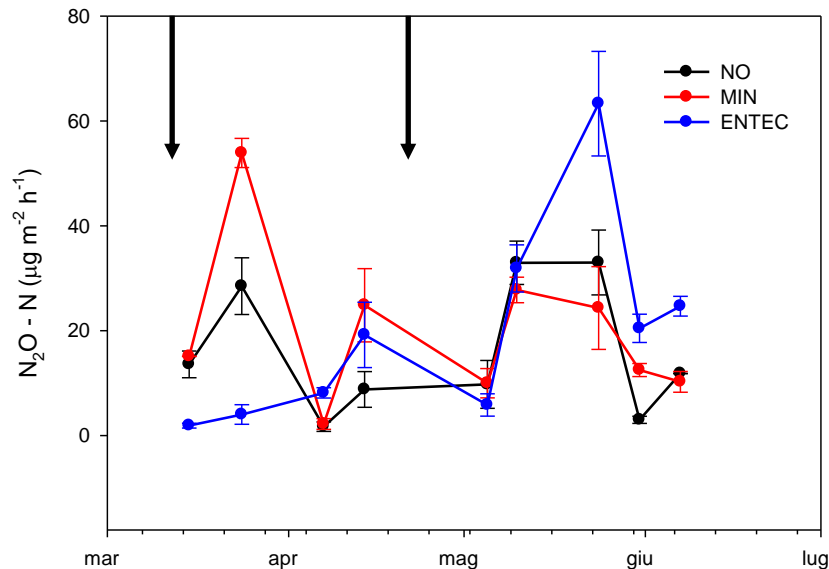


Figura 27. Andamento dei flussi di protossido di azoto nelle tre parcelle (Entec, Minerale e Non concimato) durante la stagione di crescita della patata 2011. Le frecce indicano gli interventi di fertilizzazione. Le barre di errore rappresentano gli errori standard.

Le parcelle Entec hanno mostrato valori dei flussi più bassi rispetto alle parcelle con concimazione minerale fino al 5° rilievo. Dal 6° rilievo in poi, sono stati osservati valori superiori rispetto agli altri 2 trattamenti, con condizioni di umidità e temperatura del suolo simili nei tre trattamenti. La maggiore produzione di protossido nelle parcelle trattate con Entec nell'ultima parte del ciclo, è probabilmente dovuta all'esaurimento dell'effetto dell'inibitore. Questo andamento è stato visto anche in altri studi in cui viene riportato che l'effetto dell'inibitore della nitrificazione termina il suo effetto dopo circa 20 giorni dall'applicazione (Ranucci *et al.*, 2011). Com'era da aspettarsi l'andamento dei flussi di N₂O nelle parcelle MIN è stato strettamente correlato alle due concimazioni effettuate durante la coltura.

Nelle parcelle non concimate (NO) è stato osservato un picco di protossido all'inizio del ciclo colturale dovuto alla buona dotazione di nutrienti presenti nel terreno. Successivamente sono stati osservati flussi molto bassi a causa della diminuzione dei nitrati nel suolo. Al 6° rilievo, infine, è stato osservato in tutte le tesi un incremento dei flussi dovuto, probabilmente ai due interventi irrigui di soccorso che hanno riattivato i microrganismi presenti nel suolo creando condizioni favorevoli.

Per quanto riguarda i flussi cumulati durante il ciclo (figura 28), nelle parcelle con Entec sono risultati sempre inferiori rispetto alle parcelle con concimazione minerale e, fino al 5° campionamento, anche alle parcelle in cui non è stata effettuata la concimazione.

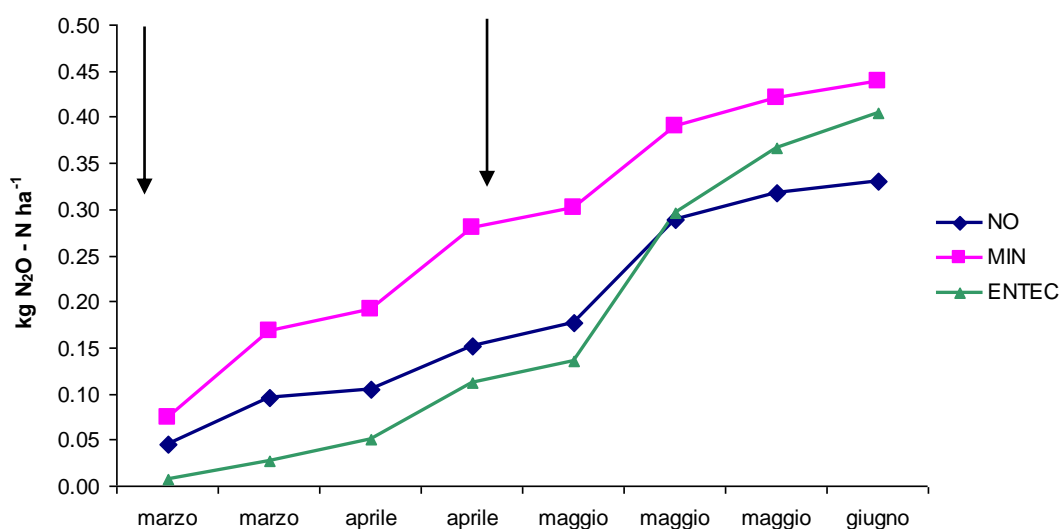


Figura 28. Curva cumulativa dei flussi di N₂O durante la coltura di patata 2011 delle tre tesi a confronto (Entec, Minerale e Non concimato).
Le frecce indicano gli eventi di concimazione

A conferma della diminuzione dei flussi nelle parcelle con concime a lento effetto, sono state calcolate le variazioni percentuali tra le emissioni registrate nelle parcelle MIN e nelle parcelle con Entec rispetto ai flussi nelle parcelle non concimate (tabella 9). Le parcelle con concimazione minerale hanno mostrato un aumento del 64%, all'inizio ciclo colturale, fino ad arrivare ad un aumento del 100 %, a circa metà ciclo colturale

quando è stata effettuata la seconda concimazione. Dopo tale periodo le percentuali sono diminuite fino ad attestarsi al 31% in più nella fase finale del ciclo colturale. Le parcelle Entec, invece, hanno mostrato, rispetto alle tesi non concimate, valori inferiori dell' 86%, all'inizio del ciclo colturale, e dell'11% a metà ciclo colturale (05/05/2011).

	variazioni % rispetto NO		MIN/ENT
	MIN	ENTEC	
15/03/2011	64.0	-86.0	11.7
24/03/2011	64.4	-69.8	5.4
07/04/2011	81.0	-15.4	2.1
14/04/2011	57.1	-47.4	3.0
05/05/2011	50.6	-11.7	1.7
10/05/2011	100.6	45.5	1.4
24/05/2011	93.4	106.7	0.9
31/05/2011	31.8	133.4	0.6

Tabella 9. Variazione percentuale dei flussi di protossido nelle parcelle minerale ed Entec rispetto alla tesi non concimata. Variazione dei flussi tra Minerale ed Entec

Alla fine del ciclo, dopo la seconda concimazione (6-04-2011), sono stati osservati flussi di protossido superiori alle tesi non concimate dovuti, come detto in precedenza, all'esaurimento dell'effetto dell'inibitore di nitrificazione.

Per quanto riguarda il rapporto di emissione tra i flussi nelle parcelle con Entec e le parcelle con concimazione minerale (tabella 9), è stato osservato che all'inizio del ciclo colturale le parcelle MIN emettono circa 12 volte in più delle parcelle concimate con Entec. Questo rapporto poi va a diminuire lungo tutto il ciclo colturale fino a diventare pari a uno nella parte finale.

La presenza dell'inibitore potrebbe aver ritardato le maggiori emissioni in seguito agli interventi di concimazione, come evidenziato anche in letteratura. Infatti Weiske *et al.* (2006) hanno riportato che l'impiego dell'inibitori della nitrificazione causa una riduzione dei flussi di N₂O dal 30 al 90%. Pfab *et al.*, (2009) su una coltivazione di mais hanno mostrato come l'utilizzo dell'inibitore (3,5-DMPP) provochi una riduzione delle

emissioni del 50%. Infine Menéndez *et al.* (2006) hanno riportato riduzioni di N₂O di circa il 30% in seguito all'impiego dello stesso inibitore della nitrificazione. In uno studio di Weiske *et al.* (2001) è stato registrato un calo medio del 49% nella quantità di N₂O rilasciato in atmosfera in 3 anni di esperimento effettuati su diversi sistemi di rotazione concimate con ENTEC. Nello studio di Macadam *et al.* (2003) è stato dimostrato che l'Entec ha efficienza di riduzione delle emissioni di N₂O del 58% rispetto alla concimazione effettuata con nitrato di calcio e del 26% rispetto al nitrato di ammonio. Merino *et al.* (2005) hanno riscontrato una riduzione del 48% nelle parcelle con Entec rispetto alle parcelle in cui era stato applicato liquame.

Dai rilievi biometrici effettuati alla raccolta, sia sulla parte epigea (figura 29) che sulla parte ipogea (figura 30), è stato osservato che le parcelle concimate con Entec hanno mostrato valori statisticamente superiori alla concimazione minerale che a sua volta ha mostrato valori statisticamente superiori rispetto alla tesi non concimata.

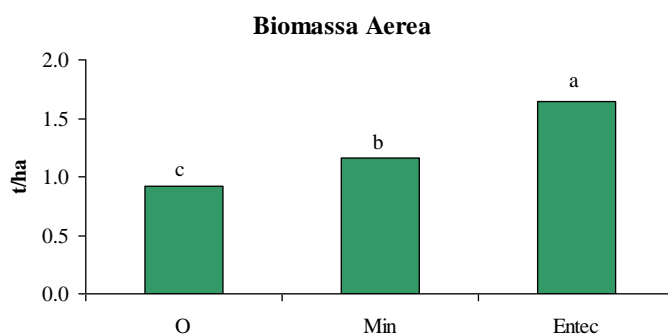


Figura 29. Produzione di biomassa aerea nelle tre parcelle a confronto

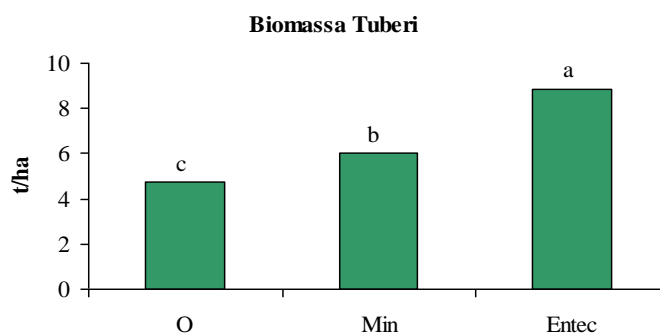


Figura 30. Produzione di biomassa dei tuberi nelle tre parcelle a confronto

5. CONCLUSIONI

5.1 I PROVA

I fattori chiave che hanno influenzato l'emissione di protossido di azoto sono stati soprattutto la percentuale di WFPS e il contenuto dei nitrati nel suolo.

La percentuale di WFPS, mediamente bassa, ha fatto riscontrare valori del fattore di emissione molto bassi rispetto ai valori riportati in letteratura.

L'utilizzo del concime a lento rilascio (Entec) ha ritardato le emissioni di protossido.

Il suolo ha confermato, come riportato anche in altri studi, la vocazione al consumo di metano atmosferico.

Quindi risulta evidente l'importanza e l'influenza di regolari e razionali pratiche agricole per diminuire le emissioni di gas serra. Occorre, pertanto realizzare piani d'irrigazione e concimazione che rispondano alle reali esigenze della pianta, evitando inutili sprechi e garantendo al tempo stesso livelli di produzione accettabili, sia sotto il profilo qualitativo che quantitativo.

Per migliorare la gestione di un suolo e di conseguenza la riduzione dell'emissione di gas serra è fondamentale effettuare monitoraggi in continuo ed automatico in modo da mettere in evidenza quali fattori tra la concimazione, l'irrigazione e i fattori climatici influenzano maggiormente la produzione di gas serra.

5.2 II PROVA

Per quanto concerne la seconda prova, il concime a lento rilascio (Entec) ha diminuito i flussi di protossido di azoto con valori di emissione molto simili a quelli registrati per le parcelle non concimate.

La caratteristica del concime di rallentare la trasformazione dell'azoto ammoniacale in azoto nitrico ha contribuito ad aumentare le produzioni.

In conclusione, quindi, l'utilizzo del concime Entec oltre a garantire una sostenibilità ambientale non va a discapito di quella economica, anzi la maggior efficienza dell'azoto stabilizzato dal DMPP si traduce in rese più elevate di circa il 33% rispetto alle tesi con concime minerale.

6. BIBLIOGRAFIA

Abbasi M. K. and Adams W. A., 1998. Loss of nitrogen in compacted grassland soil by simultaneous nitrification and denitrification. *Plant and Soil* 200: 265-277.

Abbasi M. K. and Adams W. A., 2000. Gaseous N emission during simultaneous nitrification denitrification associated with mineral N fertilization to a grassland soil under field conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, 32: 1251-1259.

Aleem M. I. H., Hoch G. E. and Varner J. E., 1965. Water is the source of oxidant and reductant in bacterial chemosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 54: 869-873.

Arah J. R. M., Smith K. A., Cricthon I. J. and Li H. S., 1991. Nitrous oxide production and denitrification in Scottish arable soils. *J. Soil Sci.* 42: 351-367.

Arcara P. G., Gamba C., Bidini D. and Marchetti R., 1999. The effect of urea and pig slurry fertilization on denitrification, direct nitrous oxide emission, volatile fatty acids, water-soluble carbon and anthrone-reactive carbon in maize-cropped soil from Po plain (Modena, Italy). *Biol. Fertil. Soils* 29: 270-276.

Armstrong W., Justin S.H.F.W., Beckett P.M. and Lythe S., 1991. Root adaptation to soil waterlogging. *Aquat. Bot.* 39: 57-73.

Aulakh M. S., Rennie D. A. and Paul E. A., 1984. Acetylene and N serve effects upon N_2O emissions from NH_4^+ and NO_3^- treated soils under aerobic and anaerobic conditions. *Soil Biol. Biochem.* 16: 351-346.

Bakken L. R., Borresen T. and Njos A., 1987. Effect of soil compaction by tractor traffic on soil structure, denitrification and yield of wheat. *J. Soil Sci.* 38: 541-552.

Betlach, M. R., Tiedje J. M., 1981. Kinetic explanation for accumulation of nitrite, nitric oxide, and nitrous oxide during bacterial denitrification. *Appl. Environ. Microbiol.* 42: 1074-1084.

Blackmer A. M., Bremner J. M. and Schmidt E. L., 1980. Production of nitrous oxide by ammonia-oxidizing chemoautotrophic microorganisms in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 40:1060-1066.

Bouwman A.F., Taylor J.A., Kroeze C. 2000. Testing hypothesis on global emissions of nitrous oxide using atmospheric models. *Glob.Change Sci.*, 2: 475-492.

Bowman A.F., 1990. Exchange of greenhouse gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere. Bowman A.F. (eds). *In Soil and the Greenhouse Effect. Joh. pp.61-127.*

Bowman R. A., 1990. Exchange of greenhouse gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere. In: Bouwman A. F. (ed.). *Soils and the greenhouse effect, 61-127.*

Bremner J. M. and Blackmar A. M., 1980. Mechanism of nitrous oxide production in soils. In: Trudinger P.A. et al. Eds. *Biochemistry Academy of Science, Canberra, Australia.*

Bremner J. M. and Blackmar A. M., 1981. Terrestrial nitrification as a source of atmospheric nitrous oxide. In: *Delwiche, C.C. Eds. Denitrification, Nitrification, and Atmospheric nitrous oxide, 151-170. John Wiley & Sons, inc., New York USA.*

Bremner J. M. and Blackmar, A. M., 1978. Nitrous oxide emissions from soil during nitrification of fertilizer nitrogen. *Science (Washington, DC) 199: 295-296.*

Bremner J. M. and Shaw K., 1958. Denitrification in soil. II Factors affecting denitrification. *J. Agric. Sci. 51: 40-52.*

Bryan B. A., 1981. Physiology and biochemistry of denitrification. In: Delwiche, C.C. Eds. *Denitrification, Nitrification, and Atmospheric nitrous oxide. John Wiley & Sons, inc., New York USA 67-84.*

Burford J. R. and Bremner J. M., 1975. relationships between the denitrification capacities of soils and total, water soluble and decomposable soil organic matter. *Soil Biol. Biochem. 7: 389-394.*

Burford J.R., Dowdell R.J., Crees R., 1981. Emission of Nitrous oxide to the atmosphere from direct-drilled and ploughed clay soils. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 32, 219-223.*

Burton D. L. and Beuchamp E. G., 1985. Denitrification rate relationships with soil parameters in the field. *Commun. Soil Sci. Plant Anal. 16: 539-549.*

Butterbach-Bahl K. & Papen H., 2002. Four years continuous record of CH₄-exchange between the atmosphere and untreated and limed soil of a N-saturated spruce and forest ecosystem in Germany. *Plant and Soil 240: 77-90.*

Clymo R. S. and Pearce D. M. E., 1995. Methane and carbon dioxide production in, transport through, and efflux from a peatland. *Philosophical Transactions of the Royal Society London 350A, 249-259.*

Cho C. M. and Mills J. G., 1979. Kinetic formulation of the denitrification process in soil. *Can. J. Soil Sci. 59: 249-247.*

Conrad R., Seiler W. and Bunse G., 1983. Factors influencing the loss of fertilizer nitrogen into the atmosphere as nitrous oxide. *J. Geophys. Res.* 88: 6709-6718.

Conrad R., 1996. Soil microorganisms as controllers of atmospheric trace gases (H_2 , CO , CH_4 , OCS , N_2O , and NO). *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 12:1996, 609-640, Vol 60, No. 4, American Society for Microbiology.

Conrad R. 2002. Microbiological and biochemical background of production and consumption of NO and N_2O in soil. In: Trace Gas Exchange in Forest Ecosystems (eds.: Gasche, R., Papen, H., Rennenberg, H.) 3–33. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.

Dachler M., 1993. Die Wirkung dicyandiamidhaltiger Stickstoffdünger zu Hackfrüchten. 2. itteilung: die Wirkung bei Körnermais und Kartoffeln. *Bodenkultur* 44:119–125

Dambreville C., Hénault C., Bizouard F., Morvan T., Chaussod R. and Germon J. C., 2006. Compared effects of long-term pig slurry applications and mineral fertilization on soil denitrification and its end products (N_2O , N_2). *Biol. Fertil. Soils* 42: 490-500.

Davidson E. A., 1991. Fluxes of nitrous oxide and nitric oxide from terrestrial ecosystems. pp. 219-235. In J.E. Rogers & W. B. Whitman Eds. Microbial production and consumption of greenhouse gases: methane, nitrogen oxides and halomethanes. American Society for Microbiology Washington DC.

Davidson E. A., 1992. Source of nitric oxide and nitrous oxide following wetting of dry soil. *Soil Sci. Soc. Am J.* 56: 95-102.

Dobbie K.E., & Smith K.A., 1996. Comparison of CH_4 oxidation rates in woodland, arable and set aside soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 28: 1357-1365

Dobbie K.E., McTaggart I.P., Smith, K.A., 1999. Nitrous oxide emissions from intensive agricultural systems: variations between crops and seasons, key driving variables, and mean emission factors. *Journal of Geophysical Research*, 104: 26891-26899.

Dowell R. J. and Smith K. A., 1974. Field studies of the soil atmosphere. II Occurrence of nitrous oxide. *Can. J. Soil Sci.* 25: 231-238

Duxbury J. M., Bouldin D. R., Terry R. E. and Tate R. L., 1982. Emissions of nitrous oxide from soils. *Nature* 298: 462-464.

Elliot P., Knight D. and Anderson J. M. 1990. Denitrification in earthworm casts and soil from pasture under different fertilizer and drainage regimes. *Soil Biol. Biochem.* 22: 601-605.

Elmi A. A., Madramootoo C., Hamel C. and Liu A., 2003. Denitrification and nitrous oxide to nitrous oxide plus dinitrogen ratios in the soil profile under three tillage systems. *Biol. Fertil. Soils* 38: 340-348.

Eswaran H., Van den Berg E. & Reich P. 1993. Organic carbon in soils of the world. *Soil Science Journal Am.* 57, 192-194.

Focht D. D. and Verstraete W., 1977. Biochemical ecology of nitrification and denitrification. In: M. Alexander Ed. *Advances in Microbial Ecology 1*: 135-214. Plenum Press New York, NY.

Focht D. D., 1974. The effect of pH, temperature and aeration on the production of nitrous oxide and gaseous nitrogen- a zero order kinetic model. *Soil Sci.* 118: 173-179.

Forte A., 2006. Denitrifier and nitrifier activities and N₂O emission of fine and textured soil of a Mediterranean irrigated cropland in southern Italy. Ph.D. Dissertation, Università degli Studi di Napoli “Federico II”

Freney J. R., Simpson J. R., Denmead O. T., Muirhead W. A. and Leuning R., 1985 Transformation and transfer of nitrogen after irrigating a cracking clay soil with a urea solution. *Aust. J. Agric. Res.* 36: 685-694.

Galloway J.N., Dentener F.J., Capone D.G., Boyer E.W., Howarth R.W., Seitzinger S.P., Asner G.P., Cleveland C.C., Green P.A., Holland E.A., Karl D.M., Michaels A.F., Porter J.H., Townsend A.R., Vorosmarty C.J. 2004. Nitrogen cycles: past, present and future. *Biogeochem.*, 70: 153–226.

Golterman H. L., 1991. Influence of FeS on denitrification in shallow waters. *Verh. Int. Ver. Theor. Angew. Limnol.* 24: 3025-3028.

Granli M.T. and Bøckman O.C., 1994. Nitrous oxide from agriculture. *Norwegian J. Agric. Sci. Supplement. No.12*, 128p

Guiraud and Marol, 1992G. Guiraud and C. Marol, Influence of temperature on mineralization kinetics with a nitrification inhibitor (mixture of dicyandiamide and thiosulphate). *Biology and Fertility of Soils*, 13 : 1–5.

Hansen S., Mæhlum J. E. and Bakken L. R., 1993. N₂O and CH₄ fluxes in soil influenced by fertilization and tractor traffic. *Soil Biol. Biochem.* 25: 621-630.

Haynes, R.J. 1986: Nitrification. In: *Mineral nitrogen in the plant–soil system.* (ed.: Haynes, R.J.) 127–165. Orlando, FL. Academic Press.

Hargreaves G.H. and Samani Z.A., 1982: G.H. Hargreaves and Z.A. Samani, Estimating potential evapotranspiration. *J. Irrig. Drain. Eng. ASCE*, 108 3, 223–230

Hussain I., Olso K. R. and Ebelhar S. A., 1999. Long-term tillage effects on soil chemical properties and organic matter fractions. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63: 1335-1341.

Hutchinson G.L. and Brams E.A., 1992. NO versus N₂O emissions from an NH₄⁺- amended Bermuda grass pasture. *J. Geophys. Res.* 97: 9889-9896

IFA and FAO, 2001. Global estimates of gaseous emissions of NH₃, NO and N₂O from agricultural land. International Industry Fertilizer Association, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

IPCC, 2001 b. Climate change 2001: the scientific basis In: Houghton J. T., Griggs D. J., Noguer M., Van der Linden P. J., Dai X., Maskell K. and Johnson C. A, Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, New York.

IPCC, 2001. Climate change 2001: Synthesis report In: Houghton J. T., Griggs D. J., Noguer M., Van der Linden P. J., Dai X., Maskell K. and Johnson C. A, Fourth volume of the third Assessment Report International Panel on Climate Change (IPCC), Cambridge University Press, New York.

IPCC, 2007. Climate Change 2007: Mitigation. Contribution of Working Group III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [B.Metz, O.R. Davidson, P.R. Bosch, R. Dave

Johansson C., Rohde H., Sanhueza E., 1988. Emission of NO in a tropical savanna and a cloud forest during the dry season. *J. Geophys. Res.*, 93: 7180–7192.

Kaplan W. A. And Wofsey S. C., 1985. The biogeochemistry of nitrous oxide: A review. *Adv. Agric. Microbiol.* 3: 181-206.

Kekker M.E., Reiners W.A., 1994. Soil- atmosphere exchange of nitrous oxide, nitric oxide and methane under secondary forest succession of pastures to forest the Atlantic lowlands of Costa Rica. . *Global Biogeochemical Cycling*, 8 399-409.

Khdyer I. I. and Cho C. M., 1983. Nitrification and denitrification of nitrogen fertilizers in a soil column. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47: 1134-1139.

Koncalova, H., 1990. Anatomical adaptations to waterlogging in roots of wetland graminoids: Limitations and drawbacks. *Aquat. Bot.*, 38: 127-134.

König O., 1983 Nitrifizide – Mittel zur Steigerung der Effektivität der Stickstoffdüngung. *Spez Agrochem* 12:1–5

Kralova M., Masscheleyn P. H., Lindau C. W. and Patrik W. H., 1992. Production of dinitrogen and nitrous oxide in soil suspensions as affected by redox potential. *Water, Air, Soil Pollut.* 61: 37-45.

Kroeze C., Mosier A. and Bouwman L., 1999. Closing the global N₂O budget: a retrospective analysis 1500-1994. *Global Biogeochemical Cycling.* 13: 1-8.

Lagreid M., Bockman O.C., Kaarstad O., 1999. Global challenge – to feed the people. In: Agriculture, Fertilizer and the Environment. 25–75. Norsk hydro ASA, Porsgrunn, Norway. No 12.

Lind D. M. and Doran J. W., 1984. Effect of Soil water filled pore space on carbon dioxide and nitrous oxide production in tilled and nontilled soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 48: 1267-1272.

Linzmeier W., Gutser R., Schmidhalter U., 2001. Nitrous oxide emission from soil and from a 15N-labelled fertilizer with the new nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP). *Biol Fertil Soils.*

Macadam X.M.B., Prado A., Merino P., Estavillo J.M., Pinto M. and Gonzalez-Murua C. 2003. Dicyandiamide and 3,4-dimethyl pyrazole phosphate decrease N₂O emissions from grassland but dicyandiamide produces deleterious effects in clover. *Journal of Plant Physiology*, 160: 1517-1523.

Malmer N., Svensson B.M & Wallen B., 1994. Interaction between Sphagnum mosses and field layer vascular plants in the development of peat-forming systems. *Folia Geobot.Phytotax., Praha*, 29: 483-496

Mancinelli R.L., 1995. The Regulation of Methane Oxidation in Soil. *Annual Reviews in Microbiology*, 49: 581-605.

Menéndez S., Merino P., Pinto M., González-Murua C. and Estavillo J. M. 2006 3,4-Dimethylpyrazol Phosphate Effect on Nitrous Oxide, Nitric Oxide, Ammonia, and Carbon Dioxide Emissions from Grasslands. *Published in J. Environ. Qual.* 35:973– 981

Martel Y. A. and MacKanzie A. F., 1980. Long-term effects of cultivation and land use on soil quality in Quebec. *Can. J. Sci.* 60: 411-420.

Martin K., Parson L. L., Murray R. E. and Scott Smith M., 1988. Dynamics of soil denitrifiers population: Relationships between enzyme activity, most-probable-number counts and actual N gas loss. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 2711-2716.

Matson P. A., Vitousek P. M., Livingston G. P. and Swanberg N. A., 1990. Sources of variation in nitrous oxide flux from Amazonian ecosystems. *J. Geophys. Res.* 95: 16789-16798.

- Matthias A. D., Blackmer A. M. and Bremner J. M., 1980.** A simple chamber technique for field measurements of fluxes of nitrous oxide from soils. *J. Environ. Qual.* 9: 251-256.
- McKenney D.J., Shuttleworth K.F. and Findlay W.I., 1980.** Nitrous oxide evolution rates from fertilized soils: Effect of applied nitrogen. *Can. J. Soil Sci.* 60: 429-438.
- McSwiney C. P. and Robertson P., 2005.** Non-linear response of N₂O flux to incremental fertilizer addition in a continuous maize cropping system. *Global Change Biology* 11: 1712-1719.
- Merino P., Menendez S., Pinto M., Gonzalez-Murua C., Estavillo J. M., 2005.** 3,4-dimethylpyrazole phosphate reduces nitrous oxide emissions from grassland after slurry application. *Soil Use Manag.* 21: 53 - 57
- Mosier A. R. and Hutchinson G. L., 1981.** Nitrous oxide emissions from cropped fields. *J. Environ. Qual.* 10: 169-173.
- Mosier A.R. , Kaye J.P. , Burke I.C. and Guerschman J.P., 2007.** Methane and nitrous oxide fluxes from urban soils to the atmosphere, *Ecological Applications*, 14: 975-981.
- Munch J. C., 1989.** Organism specific denitrification in samples of a Udifluent with different nitrate concentrations. *Z. Pflanzenernahr Bodenk.* 152: 395-400.
- Munch J. C., 1991.** Nitrous oxide emissions from soil as determined by the composition of denitrifying microbial population. *Dev. Geochem.* 6: 309-316.
- Nielsen T. H., Nielsen L. P. and Revsbech N. P., 1996.** Nitrification and coupled nitrification denitrification associated with a soil-manure interface. *Soil Sci. Sov. Am. J.* 60: 1829 1840.
- Nommik H., 1956.** Investigations of denitrification in soils. *Acta Agric. Scand.* 6: 195-228.
- Parkin T. B. and Tiedje J. M., 1894.** Application of a soil core method to investigate the effetc of oxygen concentration on denitrification. *Soil Biol. Biochem.* 16: 331-334.
- Parton, W.J., Mosier, A.R., Ojima, D.S., Valentine, D.W., Schimel, D.S., Weier, K., Kulmala, A.E., 1996.** Generalized model for N₂ and N₂O production from nitrification and denitrification. *Global Biogeochem. Cycles* 10, 401–412.
- Pfab H., Ruser R., Palmer I., Fiedler S., Buegger F., Muller T., 2009.** N₂O Emissions from a high N-Input system as influenced by fertilizer amount and type. In Grignani C., Acutis M., Zavattaro L., Bechini L., Bertora C., Marino Gallina P., Sacco D. (Eds) Proceedings of the 16th Nitrogen Workshop-

Connecting different scales of nitrous oxide use in agricultural. 28th June-1st July 2009, Turin, Italy, 197-198.

Potter C.S., Matson P.A., Vitousek P.M., Davnson E.A., 1996. Process modelling of controls on nitrogen trace gas emissions from soil world-wide. *Journal of Geophysical Research* 101, 1361-1371

Ranucci S., Bertolini T., Vitale L., Di Tommasi P., Ottaiano L., Oliva M., Amato U., Fierro A., Magliulo V., 2011. The influence of management and environmental variables on soil N₂O emissions in a crop system in Southern Italy. *Plant Soil* 343:83–96

Robertson L. A. and Kuenen J. G., 1991. Physiology of nitrifying and denitrifying bacteria. In: Rogers, J.E., Whitman, W.B. (Eds.), *Microbial Production and Consumption of Greenhouse Gases: Methane, Nitrogen Oxides and Alomethaes*. *Am. Soc. Microbiol., Washington, DC*, 189- 199.

Ruser R., Flessa H., Russow R., Schmidt G., Buegger F. and Munch J. C., 2006. Emission of N₂O, N₂ and CO₂ from soil fertilized with nitrate: effect of compaction, soil moisture and rewetting. *Soil Biol. Biochem.* 38: 263-274.

Ryden J. C., Lund L. J., Letey J. and Focht D. D., 1979. Direct Measurement of denitrification loss from soils: II. Development and application of field methods. *Soil Sci.Soc. of America Journal* 43: 110-118.

Ryden J.C., 1980. Nitrous oxide exchange between a grassland soil and the atmosphere. *Nature* 292: 235-237.

Sánchez L., Díaz J. A., Vallejo A. and Cartagena M. C., 2001. Denitrification losses from irrigated crops central Spain. *Soil biology & Biochemistry.* 33: 1201-1209.

Sextone A. J., Parkin T. B. and Tiedje J. M., 1988. Denitrification response to soil wetting in aggregated and unaggregated soil. *Soil Biology & Biochemistry* 20: 767-769.

Scheffer B., Bartels R., 1998 Kann durch Einsatz stabilisierter N-Dünger der Nitrataustrag aus einem Sandboden verringert werden? *VDLUFA-Schriften* 49:633– 636

Schindlbacher A. and Zechmeister-Boltenstern S., 2004. Effects of soil moisture and temperature on NO, NO₂, and N₂O emissions from European forest soil. *Journal of Geophysical Research*, Vol. 109, D17302.

Schmidt J., Seiler J. and Conrad R., 1988. Emission of nitrous oxide from temperate forest soils into the atmosphere. *J. Atmos. Chem.* 6: 95-115.

Šimek M., Elhottová D., Klimeš F. and Hopkins D. W., 2004. Emissions of N₂O and CO₂, denitrification measurement and soil properties in red clover and ryegrass stands. *Soil Biology Biochemistry* 36: 9-21.

Smith C. J., Wright M. F. and Jr Patrik W. K., 1983. The effect of soil redox potential and pH on the reduction and production of nitrous oxide. *J. Environ. Qual.* 12: 186-188.

Smith K. A., 1980. A model of the extent of anaerobic zones in aggregated soils, and its potential application to estimates of denitrification. *J. Soil Sci.* 31: 263-277.

Staley T. E., Caskey W. H. and Boyer D. G., 1990. Soil denitrification and nitrification potentials during the growing season relative to tillage. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 54: 1602-1608.

Stouthamer A. H., 1988. Dissimilatory reduction of oxidized nitrogen compounds. In: Zehnder A. J. B. (ed.) *Biology of anaerobic microorganisms*. John Wiley and Sons Ltd., New York, NY, 245- 303.

Su W., Song W., Zang H., Cao M., Lu H. and Zou Q., 1990. A primary study of nitrous oxide emission in agricultural region of northern China. *J. Environ. Sci.* 11: 26-32.

Suzuki I., Kwok S.C., 1981. A partial resolution and reconstitution of the ammonia-oxidizing system of *Nitrosomonas europaea*: role of cytochrome c₅₅₄. *Biochemistry and cell Biology*.

Teira-Esmatges M. R., Van Cleemput O., Porta-Casanellas J., 1998. Fluxes of nitrous oxide and molecular nitrogen from irrigated soils of Catalonia (Spain). *Journal of Environmental Quality* 27: 687-697.

Terry R. E. and Tate R. L., 1980. The effect of nitrate on nitrous oxide reduction in organic soils and sediments. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 44: 744-746.

Torbert H. A. and Wood C. W., 1992. Effects of soil compaction and water filled pore space on soil microbial activity and N-losses. *Comm. Soil Sci. Plant. Anal.* 23: 1321-1331.

Tsang D.C.Y. and Suzuki I., 1982. Cytochrome c-554 as a possible donor in the hydroxylation of ammonia and carbon monoxide in *Nitrosomonas europaea*. *Canadian Journal of Biochemistry*. 60: 1018-1024.

Tsuruta H., You M., Kanda K. and Minami K., 1993. Measurements of NO and N₂O emissions from fertilized soils. Abstract 5th Session, 11th International Symposium on Environmental Biogeochemistry, Salamanca.

Vallejo A., Diez J. A., Lopez-Valdivia L. M., Arce A. and Lòpez-Fernàndez S., 2003. Nitrous oxide emissions and denitrification N-losses from an irrigated sandy-loam soil fertilized with organic N fertilizers in Central Spain. Proceeding of the 8th International Conference on Environmental Science and Technology Lemnos island, Greece, 8-10 September 2003.

Vallejo A., Diez J. A., Lopez-Valdivia L. M., Cartagena M. C., Tarquis A. and Hernàiz P., 2004. Denitrification from an irrigated soil fertilized with pig slurry under Mediterranean conditions. *Biol. Fertil. Soils* 40: 93-100.

Vinther F. P., Eiland F., Lind A.-M. and Elsgaard L., 1999. Microbial biomass and numbers of denitrifiers related to macropore channels in agricultural and forest soils. *Soil Biol. Biochem.* 31: 603-611.

Webster C. P. and Dowdell R. J., 1982. Nitrous oxide emission from permanent grass swards. *J. Sci. Food Agric.* 33: 227-230.

Weiske A., Benckiser G., Herbert T., Ottow J.C.G., 2001 Influence of the nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) in comparison to dicyandiamide (DCD) on nitrous oxide emissions, carbon dioxide fluxes and methane oxidation during 3 years of repeated application in field experiments. *Biol Fertil Soils*

Weiske A., Vabitsch A., Olesen J.E., Schelde K., Michel J., Friedrich R. and Kaltschmitt M., 2006. Mitigation of greenhouse gas emissions in European conventional and organic dairy farming. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 112,: 221-2321.

Williams E. J., Hutchinson G. L., Fehsenfeld F. C., 1992. NO_x and N₂O emissions from soil. *Global Biogeochemical Cycles* 6: 351-388.

Wozniak H., Fuchs M., Michel H.J., 1997. N-Stabilisierung – Untersuchungen zum Einsatz von Nitrifikationshemmern i landwirtschaftlichen Kulturen. *VDLUFA-Schriftenr Kongressband* 46:807–810

Wrage N., Velthof G. L., Van Beusichem M. L. and Oenema O., 2001. Role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide. *Soil Biol. Biochem.* 33: 1723-1732.

WWF Report, 2005. Climate change impacts in the Mediterranean resulting from a 2 °C global temperature rise, by Giannakopoulos G., Bindi M., Moriondo M. and Tin T.

WWF Report, 2006. Drought in the Mediterranean: WWF Policy Proposals, by Isendahl N. and Schmidt G.

Yoshida T. and Alexander M., 1970. Nitrous oxide formation by *Nitrosomonas europaea* and heterotrophic microorganisms. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 34: 880-882.

Zerulla W., Lutz H.J. 1992. Impact of different N-forms on yield, N-recovery, N-balance and the Nmin-content in the soil after harvest in long-term field trials. In: Francois E, Pithan K, Bartiaux-Thill N (eds) Nitrogen cycling and leaching in cool and wet regions of Europe. Proceedings of a workshop, 22–23 October 1992, Gembloux, Belgium. European Cooperation in the Field of Scientific and Technical Research (COST), *Brussels*, pp 77–78

Zumft W. G., 1997. Cell Biology and Molecular Basis of denitrification. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 61 (4): 533-613.